

A vazopresszin szabályozó szerepe stresszben és stresszhez kapcsolódó kóros folyamatok során

MTA Doktori értekezés

Dr Zelena Dóra Tímea

Magyar Tudományos Akadémia,
Kísérleti Orvostudományi Intézet

„Theories don't have to be correct – only facts do.” (Selye János)

Budapest
2015

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	5
1. Bevezetés.....	7
2. Irodalmi háttér	8
2.1. Stresszorok	8
2.2. A hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely (HHM)	10
2.2.1. A hipotalamusz	10
2.2.1.1. A hipotalamusz anatómiája	10
2.2.1.2. Kortikotropin elválasztást serkentő hormon (CRH)	11
2.2.2. A hipofízis	12
2.2.2.1. Adrenokortikotróp hormon (ACTH)	12
2.2.3. Mellékvese	14
2.2.3.1. A mellékvese velőállománya	14
2.2.3.1.1. Katekolaminok és receptoraik	14
2.2.3.2. A mellékvese kéregállománya	16
2.2.3.2.1. Glükokortikoidok	16
2.2.3.2.2. Mineralokortikoidok	19
2.2.3.2.3. Glükó- és mineralokortikoid receptorok	20
2.3. A stresszfolyamatok sajátosságai	22
2.3.1. A perinatális kor	22
2.3.2. Nemi különbségek	23
2.3.3. Anyák HHM tengelye	24
2.4. Vazopresszin (AVP)	25
2.4.1. A vazopresszin fő hatásai	28
2.4.1.1. Szomatikus hatások	28
2.4.1.2. A vazopresszin hatása stresszben	29
2.4.2. A vazopresszin szerepe betegségekben	31
2.4.2.1. Diabetes insipidus	31
2.4.2.2. Magas vérnyomás	32
2.4.2.3. Metabolikus szindróma	32
2.4.2.4. Csontrendszer	32
2.4.2.5. Stresszel kapcsolatos betegségek	33
2.4.2.5.1. Gyomorfekély (ulcus)	33
2.4.2.5.2. Pszichiátriai megbetegedések	34
2.4.2.5.2.1. Szorongás, depresszió	34
2.4.2.5.2.2. Patológias agresszió	35
2.4.2.5.2.3. Egyéb pszichiátriai betegségek	36
2.4.3. Vazopresszin hiányos Brattleboro patkányok	36
2.4.3.1. A Brattleboro törzs eredete	36
2.4.3.2. A stressz-tengely működése Brattleboro patkányokban	38
2.4.3.2.1. ACTH és kortikoszteron disszociáció	38
2.4.3.3. A Brattleboro patkányok általános jellemzői (etogram)	40
3. Célkütyések.....	41
4. Módszerek.....	42
4.1. Kísérleti állatok	42
4.2. Mintavétel	43
4.2.1. Vér és szövetminták nyerése dekapitálással	43
4.2.2. Szövetminta nyerése immunhisztokémiai vizsgálatokhoz	43
4.2.3. Krónikus juguláris kanül beültetése vérminták vétele céljából	44
4.3. Műtéti eljárások	44
4.3.1. Mikrodialízis mintavevő beültetése az agyba	44
4.3.2. Alzett ozmótikus minipumpa beültetése	45
4.4. Mérések	46
4.4.1. Hormonmérések	46
4.4.1.1. Kortikoszteron	46
4.4.1.2. ACTH	46
4.4.1.3. Oxitocin	46
4.4.1.4. Vazopresszin	46
4.4.1.5. Adrenalin, Noradrenalin	47
4.4.1.6. Aldoszteron	47
4.4.2. Kortikoszteron kötő fehérje (CBG)	47
4.4.3. In situ hibridizáció	48
4.4.3.1. Szövetelőkészítés	48
4.4.3.2. Hibridizáció	48
4.4.4. Immunhisztokémia	49
4.4.4.1. Immunhisztokémiai jelölés	49
4.4.4.2. Az immunhisztokémiai jelölések kvantitatív analízise	51
4.4.5. In vitro mérések (Statikus inkubálás)	52
4.4.6. Kvantitatív PCR	53

4.4.6.1. Primerek	53
4.5. Gyomorfejkély	54
4.6. Magatartási tesztek	54
4.6.1. Szorongás és depresszió	54
4.6.1.1. Emelt keresztpalló (elevated plus maze, EPM)	54
4.6.1.2. Kényszerített úszás teszt (forced swim test, FST)	55
4.6.2. Impulzivitás	56
4.6.3. Agresszió: rezidens betolakodó teszt	57
4.7. Kísérleti protokollok	58
4.7.1. A HHM tengely	60
4.7.1.1. Krónikus stressz	60
4.7.1.1.1. Két hetes krónikus stresszmodellek Brattleboro patkányokban	60
4.7.1.1.1.1. Ismételt mozgáskorlátozás (restraint, R)	60
4.7.1.1.1.2. Cukorbetegség (diabetes mellitus, DM)	60
4.7.1.1.1.3. Morfin kezelés (Mo)	61
4.7.1.1.2. Az anya HHM tengelyének vizsgálata	61
4.7.1.2. Akut stressz kísérletek	62
4.7.1.2.1. Különféle stresszorok alkalmazása	62
4.7.1.2.1.1. Különféle akut stresszorok összehasonlítása	62
4.7.1.2.1.2. Éter stressz	63
4.7.1.2.2. Mikrodialízis vizsgálatok	63
4.7.1.2.2.1. PVN	63
4.7.1.2.2.2. SON	63
4.7.1.3. Perinatális kor	64
4.7.1.3.1. Akut stresszor	64
4.7.1.3.1.1. Anyai szeparáció	64
4.7.1.3.1.2. Éter stressz	64
4.7.1.3.1.3. Lipopoliszaccharid injekció (LPS)	64
4.7.1.3.1.4. Hypnom injekció	65
4.7.1.3.2. Eredmények megerősítése más vazopresszin-hiányos modellekben	65
4.7.1.3.2.1. Vazopresszin antiszérum perinatális korban	65
4.7.1.3.2.2. V1b antagonistá	65
4.7.1.3.3. ACTH és kortikoszteron disszociáció	65
4.7.1.3.3.1. Időgörbe	65
4.7.1.3.3.2. Kortikoszteron kötő fehérje (CBG)	66
4.7.1.3.3.3. In vitro vizsgálatok: mellékvese inkubálás	66
4.7.1.3.3.4. A szimpatikus idegrendszer, katekolaminok szerepe	66
4.7.1.3.3.4.1. Hormonszintek mérése	66
4.7.1.3.3.4.2. β adrenerg antagonistá előkezelés hatása hipoglikémiás stresszre	66
4.7.1.3.3.5. Mineralokortikoidok	67
4.7.2. Patológia	67
4.7.2.1. Gyomorfejkély	67
4.7.2.2. Pszichiátriai jellegű eltérések	67
4.7.2.2.1. Szorongás- és depresszió-szerű tünetek	67
4.7.2.2.2. Perifériás vazopresszin hatása a szorongás- és depresszió-szerű tünetek megjelenésére	68
4.7.2.2.3. Impulzivitás	68
4.7.2.2.4. Agresszió	68
4.8. Statisztika	68
5. Eredmények	70
5.1. Krónikus stressz	70
5.1.1. Két hét stressz him Brattleboro állatokban	70
5.1.2. Krónikus HHM tengely aktivitás a szoptató Brattleboro patkányokban	71
5.1.2.1. Agyi aktivitási mintázat az anyákban: c-Fos	72
5.2. Akut stressz	73
5.2.1. Különféle akut stresszorok alkalmazása him Brattleboro állatokban	73
5.2.2. CRH immunhisztokémiai vizsgálata	74
5.2.3. Mikrodialízis a PVN-ben	74
5.2.4. Oxitocin szintek az SON-ben	75
5.3. Perinatális stressz	76
5.3.1. Akut stresszorok	76
5.3.1.1. Akut stressz 10 napos Brattleboro patkányokban	76
5.3.1.2. Immunneutralizálás 10 napos állatban	77
5.3.1.3. V1b antagonistá kezelés 10 napos állatban	77
5.3.2. ACTH és kortikoszteron disszociáció	77
5.3.2.1. Az ACTH és kortikoszteron szintek időbeli lefutása	78
5.3.2.2. Kortikoszteron kötő kapacitás	78
5.3.2.3. A mellékvese ACTH érzékenység in vitro mérése	79
5.3.2.4. Katekolaminok	79
5.3.2.4.1. Hormonszintek mérése	79

5.3.2.4.2. β adrenerg antagonist	80
5.3.2.5. Mineralokortikoidok	80
5.3.2.5.1. Hipoglikémia felnőtt és 10 napos Brattleboro patkányban	80
5.3.2.5.2. PCR mérések felnőtt és 10 napos Brattleboro patkányokban	81
5.4. Gyomorfekély Brattleboro patkányban	82
5.5. Szorongás- és depresszió-szerű tünetek	82
5.5.1. Felnőtt him Brattleboro patkányok	82
5.5.2. Perifériás AVP hatása	83
5.6. Impulzivitás	84
5.7. Agresszió	85
6. Megbeszélés	86
6.1. Krónikus stressz	86
6.1.1. A vazopresszin szerepe	86
6.1.2. Laktáló anyák	90
6.2. Akut stressz	92
6.2.1. Különféle akut stresszhelyzetek hatása	92
6.2.1.1. ACTH extraadrenális szerepe	95
6.2.2. Mikrodialízis vizsgálatok	96
6.3. Perinatális stressz	99
6.3.1. A vazopresszin hatása a korai posztnatális stresszreaktivitásra	99
6.3.2. Az ACTH független glükokortikoid szekréció	102
6.3.2.1. Kizárandó jelenségek	102
6.3.2.1.1. Eltérő időbeli lefutás	102
6.3.2.1.2. CBG szintek	103
6.3.2.1.3. Mellékvese érzékenység	103
6.3.2.2. ACTH független glükokortikoid szekréció	104
6.3.2.2.1. Mellékvese katekolaminok	105
6.3.2.2. Glükó- és mineralokortikoidok	109
6.4. Gyomorfekély	112
6.5. Szorongás- és depresszió-szerű viselkedés	113
6.5.1. Szorongás-szerű viselkedés	114
6.5.2. Depresszió-szerű viselkedés	115
6.6. Impulzivitás	116
6.7. Agresszió	117
7. Következtetések	120
8. Összefoglalás	121
8. Summary	122
9. Irodalomjegyzék	123
10. Saját publikációk	146
10.1. Publikációk az értekezés témájában	146
10.1.1. Újságcikkek	146
10.1.2. Könyvfejezetek	149
10.2. Egyéb saját publikációk	149
10.2.1. Újságcikkek	149
10.2.2. Könyvfejezetek	153
11. Köszönetnyilvánítás	154

Rövidítések jegyzéke

11 β HSD1/2	11- β -hidoxiszteroid-dehidrogenáz
14R	14 napon keresztül napi 1 óra mozgáskorlátozás, restraint
ACTH	adrenokortikotropin, adrenocorticotropin hormone
ADX	mellékveseirtás, adrenalectomia
AL	hipofízis első lebenye, anterior lobe
AUC	görbe alatti terület, area under the curve
AVP	vazopresszin, arginine vasopressin
BNST	bed nucleus of stria terminalis
CBG	transzkortin, corticosterone binding globulin
CRH	kortikotropin elválasztást serkentő hormon, corticotropin-releasing hormone
CRH-R1	CRH 1-es receptora
CMS	krónikus váltakozó, enyhe stressz, chronic mild stress
DDAVP	dezmozopresszin, V2 receptor agonista
di/+	heterozigóta vazopresszin hiányos Brattleboro patkány, kontroll
di/di	homozigóta diabetes insipidus-os, vazopresszin hiányos Brattleboro patkány
DHEA	dehidroepiandroszteron
DM	cukorbetegség, diabetes mellitus
DMEM	Dulbecco's minimal essential medium
EPM	emelt keresztpalló, elevated plus maze
FST	kényszerített úszás teszt, forced swim test
GAPDH	gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz, „house keeping gene”
GC	glükokortikoid
GR	glükokortikoid receptor
HAB	high anxiety behavior, fokozott szorongási magatartást mutató állat az EPM alapján
HHM tengely	hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely
icv	intracerebroventricular, agykamrába adott injekció
ip	intraperitoneális, hasüregbe történő injekció
iv	intravénás injekció
KO	génkiütött, knockout állat
KPI	központi idegrendszer
LAB	low anxiety behavior, csökkent szorongási magatartást mutató állat az EPM alapján
LPS	lipopoliszacharid injekció, a bakteriális infekció modellje
MC	mineralokortikoid
MC2R	melanokortin receptor 2, az ACTH elsődleges receptora
ME	hipofízisnyél, median eminence
Mo	krónikus morfin kezelés
MR	mineralokortikoid receptor
MS	anyai elválasztás, maternal separation
NL	hipofízis hátsó lebenye, neuronal lobe
NRS	normál nyúl szérum

OT	oxitocin
PBS	foszfát puffer, phosphat buffer saline
PC	prohormon konvertáló enzim, prohormone convertase enzyme
POMC	proopiomelanokortin
PTSD	poszttraumás stressz szindróma
PVN	hipotalamusz paraventrikuláris magja, nucleus paraventricularis hypothalami
R	mozgáskorlátozás stressz, restraint
RAS	renin angiotenzin rendszer, renin-angiotensin-system
RI	rezidens-intruder teszt, agresszió tesztelése
RIA	radioimmunoassay
SAS	szimpatoadrenomedulláris rendszer, sympathoadrenomedullary system
sc	szubkután, bőr alá történő injekció
SCN	hipotalamusz szuprakiazmatikus magja, nucleus suprachiasmaticus
SHRP	csökkent stressz reaktivitású időszak, stress hyporesponsive period
SON	hipotalamusz supraoptikus magja, nucleus supraopticus hypothalami
SSC	nátrium-klorid trinátrium-citrát puffer, saline-sodium citrate buffer
STZ	streptozotocin, cukorbetegséget előidéző toxikus anyag
vs	versus, valamelyik csoporthoz viszonyítva
ZE	az eminentia mediana külső része, zona externa

1. Bevezetés

A stressz-fogalom eredeti megalkotója, Selye János a stresszt a szervezet bonyolult és összetett válaszának tekintette minden, a szervezetet érintő kihívásra, melynek célja az alkalmazkodás elősegítése [1]. Kísérletei során egymástól eltérő ingerek hatására hasonló elváltozásokat figyelt meg (mellékvesék megnagyobbodása, csecsemőmirigy visszafejlődése, fekélyek kialakulása a tápcsatorna egyes szakaszain stb.) [2]. A megfigyelt tünet együttest „*stressz-szindrómának*”, a kiváltó ingereket stresszoroknak nevezte. Elmélete, az „*általános adaptációs szindróma elmélet*” szerint az élő szervezet a külső-belső környezetből érkező különböző ingerekre azonos módon képes reagálni [1]. Az általánosítás mellett fontosnak tartotta elkülöníteni az eustressz (pozitív stressz: erősítő hatású, megoldható, leküzdhető) és a distressz (negatív stressz: belső egyensúly elvesztésével jár, megújíthatatlan, befolyásolhatatlan) fogalmát is. Ha az egyén képes megbirkózni a kihívással, akkor ez megerősíti, ha viszont a stresszor túl erős, vagy hosszantartó, a szervezet kimerülhet, ami a fent említett betegségek kialakulásához vezethet. Orvosi jelentősége miatt a stressz fogalma alatt általában a distresszt értjük, ami megvalósulhat a szervezet, de a sejtek szintjén is (lásd oxidatív stressz, bár azt inkább szövetkárosodásnak kellene hívunk [3]). Selye János felismerte a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely (HHM) jelentőségét a stressz-folyamatok szabályozásában, és a stressz-szindróma tüneteire a tengely véghormonjait, a glükokortikoidokat (GC) tette felelőssé. Ma a tengely hipotalamikus szabályozásában a kortikotropin elválasztást serkentő hormont (corticotropin-releasing hormone, CRH) tekintjük az elsődlegesnek, de történetileg az első felfedezett hasonló szerepű molekula a vazopresszin (arginine vasopressin, AVP) volt.

Kutatómunkám célja az AVP szerepének vizsgálata volt a stressz-tengely működésében az akut és krónikus stresszorok összehasonlítása révén, valamint a kor és nem függő különbségek feltérképezése. A stresszhez kapcsolódó kórképek közül a gyomorfekély, valamint pszichiátriai eltérések (szorongás, depresszió, patológiás agresszió) tanulmányozására került sor.

2. Irodalmi háttér

2.1. Stresszorok

Meglehetősen nehéz dolgunk van, ha arra készülünk, hogy a különböző stresszorokat csoportosítsuk, hiszen rengeteg szempont szerint tehetjük ezt. Csoportosíthatjuk őket **intenzitásuk** (erős vagy gyenge) alapján. Beszélhetünk **pszichológiai** (pl. újdonság stressz, szociális elkerülés), **fizikai** (pl. elektromos áramütés - lábsokk (footshock), fertőzés, vérzés [4]), **metabolikus** (pl. hipoglikémia, hipertóniás só injekció, éhezés [5]) stresszről. Lehet a stressz **kognitív** (pl. mozgáskorlátozás (restraint)), vagy **nem kognitív** (pl. fertőzés) [6]); illetve **szisztémás** (pl. ozmótikus stressz stimulus vagy kardiovaszkuláris veszélyhelyzet) vagy **neurogén** (fizikai, pl. immobilizáció) [7].

A stresszkutatás mai nézetei szerint alapvetően két fő irányvonalat vázolhatunk fel. A csoportosítás alapja lehet, hogy vajon a stressz feldolgozásában magasabb előagyi struktúrák (pl. limbikus területek) részt vesznek-e vagy sem. A **fizikai stresszorok** valamely homeosztatis paraméter viszonylagos állandóságát veszélyeztetik. Jellemző, hogy az agykérgi aktiváció minimális, a stresszorok közvetlenül aktiválják az agytörzsi viszcero-szenzoros központokat. Innen az ingerület egyszerű, néhány neuronos pályákon keresztül jut el a HHM tengelyhez. A neuronális bemenetek többfélék lehetnek és az aktivált területek is a stresszor természetétől függenek. A baroreceptorok, a tápcsatorna, a szív, a máj, a légzőrendszer kemoreceptorai a nucleus tractus solitarii-n keresztül érik el a hipotalamuszt [8, 9]. A plazma ozmolalitás változásai a cirkumventrikuláris szervekre vannak hatással [10], míg a testhőmérséklet változásai a hipotalamusz termoreceptív területeit aktiválják [11].

Pszichogén stresszorok például a megszokottól eltérő környezet, a bezártság, immobilizáció. Ebben az esetben sokkal összetettebb szomatoszenzoros (esetenként fájdalmas) ingerek azok, melyek a HHM tengely fokozott működését váltják ki. Pályakövetéses és léziós vizsgálatok arra engednek következtetni, hogy a prefrontális kéreg, a hippocampusz és az amigdala jut elsődleges szerephez ezen stresszorokra adott endokrin válaszok kialakításában [12-15].

Noha az előbb említett két fő csoportba besorolhatjuk valamennyi stresszort, valójában minden stimulus fizikai és pszichogén elemeket egyaránt magába foglal, bár az arány eltérő lehet. A HHM tengely aktiválódása mintegy végső közös útként szerepel minden esetben.

További szempont lehet a stressz időbeni fennállásának megítélése, amivel kapcsolatban az irodalom sem egységes. A szakirodalom nagy része az **akut** stresszfolyamatok tanulmányozásáról szól, hiszen ez kívánja a legkevesebb munkát és ez okozza a legkevesebb szenvedést az állatoknak. Nehézséget jelenthet azonban az akut stressz megfogalmazása: az állatok új környezetbe helyezése történhet 5-10, de akár 30-60 perces időtartamra is, és egy immunválaszt kiváltó egyszeri lipopoliszacharid injekció (LPS, bakteriális infekció modellje) aktiváló hatása percek alatt kezdődik, de még napok múlva is kimutatható. Általános következtetések levonásához célszerű többféle stresszor összehasonlítása akkor is, ha mindegyiket akut hatásúnak tekintjük. Az akut stimulusokra adott lehetséges válasz Cannon szerint „*Fight or Flight*”, harcolás vagy menekülés. Bár ő a folyamat fő szabályozójának a szimpatikus idegrendszert tekintette, de kétségtelenül más faktorok, mint például a Selye által alaposabban tanulmányozott HHM tengely szerepe is elengedhetetlen. Napjainkban a harcolást és menekülést szokás kiegészíteni egy harmadik lehetséges válasszal, a dermedéssel is (fight, flight and freeze [16, 17]), ami már egy 1979-es cikk szerint is kifejezetten előnyös stratégia (elősegíti a szorongás-mentes öregkort [18]). Egyes szerzők az emberre jellemző még komplexebb akut stresszválaszról számolnak be (freeze, flight, fight, fright, faint; azaz dermedést, menekülést, harc, félelem, gyengeség [17]). A nemek közti különbségek a stratégiákban is megnyilvánulnak, hiszen egy 2000-es tanulmány szerint a nők inkább a tend-and-befriend (védjük az utódot és barátkozzunk) stratégiával próbálkoznak fenyegető helyzetekben [19].

A humán patofiziológias vonatkozások szempontjából nagyobb a jelentősége a **krónikus** stressznek. Az állatkísérletekben alkalmazott időskála itt is elég széles. Az 5 naptól (streptozotocinnal (STZ) kialakított cukorbetegség [20]) az 5-9 hétig (a depresszió modellnek számító krónikus enyhe stressz (chronic mild stress, CMS) [21]) sokféle időtartammal találkozhatunk az irodalomban. A krónikus stresszállapotban a szervezet válaszkészsége újabb kihívásokra háromféle módon változhat: (1) az ismétlődő stresszorra hozzászokás, míg egy új stimulusra fokozott érzékenység jöhet létre; (2) az ismétlődő ingerre ugyan nincs adaptáció, de az új ingerre hiperaktivitás figyelhető meg, mely főként ismételt fájdalmas ingerekre, és inzulin hipoglikémia esetén alakul ki; (3) csökkent, elnyújtott stresszhormon válasz új ingerre [22]. Mivel a HHM tengely működése mindhárom esetben valamilyen szinten megtartott, ezért feltételezték, hogy a szabályozás oly módon változik, hogy a megemelkedett GC szintek negatív visszacsatolása (feedback hatás) kevésbé érvényesül. Kimutatták, hogy a hipotalamuszban a

neuropeptidek összetétele eltolódik. A GC-k negatív visszacsatolására kevésbé érzékeny AVP mennyisége megnő [23]. Ezekből az adatokból Mary Dallman [24] és Greti Aguilera [22] arra a következtetésre jutottak, hogy az AVP lenne a HHM tengely fő hipotalamikus szabályozója krónikus stressz során. Saját vizsgálataink megkezdése előtt ez az elmélet kezdett szélesebb körben elfogadottá válni, bár bizonyító erejűnek számító vizsgálatok hiányoztak (pl. AVP hiányos állatokon kialakul-e a krónikus stressz, lásd 2. táblázat).

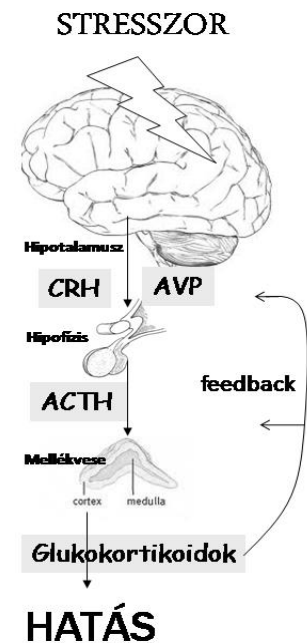
2.2. A hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely (HHM)

A stresszválaszok kialakításában számos agyi terület vesz részt, melyek a vegetatív, az endokrin, és a magatartási válaszkomponensek finom összehangolásával teszik lehetővé az egyed számára a túlélést. Ugyan a különböző stresszorok eltérő agyi területeket mozgósítanak a központi idegrendszerben (KPI), az ingerek minden esetben a végső feldolgozás helyére, a hipotalamusz paraventriculáris magjának (PVN) hipofizeotróp kissejtes (parvocelluláris) neuronjaiba futnak be. A feldolgozandó ingerek hatására ezek a sejtek CRH-t és AVP-t juttatnak az agyalapi mirigy portális keringésébe. A portális vérbe jutott CRH és AVP fokozza a hipofízis elülső lebeny (adenohipofízis, anterior lobe, AL) adrenokortikotróp hormonjának (adrenocorticotropin, ACTH) termelődését, mely végső soron a mellékvesék kéregállományában található sejtek GC szekrécióját fokozza (1. ábra).

2.2.1. A hipotalamusz

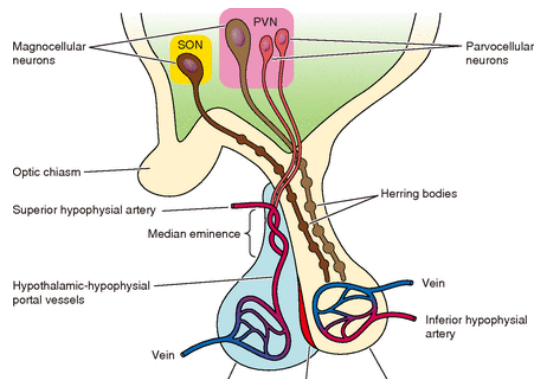
2.2.1.1. A hipotalamusz anatómiája

A PVN a **kissejtes** része a 3. agykamra falához közelebb, mediálisan és ventrálsan helyezkedik el (2. ábra) [25]. Az AL-re ható felszabadító hormonokat (pl. CRH) és gátló (pl. szomatosztatin [26]) hormonokat termelnek, melyek az axonokból a hipofízisnyél (median eminence, ME) területén felszabadulva a hipofízisnyél portális keringésén át jutnak az AL-ba és annak hormontermelését szabályozzák. Bár kezdetben feltételezték a kissejtes neuroszekréciós sejtek monospecificitását, későbbi vizsgálatok kimutatták, hogy egyszerre több hormon termelésére is képesek. Attól függően, hogy ezek közül melyik a domináns, több típus



1. ábra A hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely szabályozásának klasszikus sémája (Zelena és Makara, 2011, 1. ábrája alapján).

különíthető el. A stressz-folyamatok szabályozásában a CRH termelő hipofizeotróp sejtek játszanak kulcsfontosságú szerepet [27], melyek AVP termelésre is képesek [22, 24, 28], de pl. nesfatin-1-el is kolokalizálnak [29]. Sejtjei direkt bemenetet kapnak más agyi magoktól (pl. nucleus tractus solitarius, nucleus parabrachialis, nucleus suprachiasmaticus (SCN), nucleus preopticus medialis [30]), illetve számos, pszichogén stresszorok által aktivált magasabb agyi központtól [31, 32].



2. ábra A hipotalamusz-hipofízis egység szagittális irányú metszetének sematikus ábrázolása (Kohimizu és mtsai, 2012).

A PVN **magnocelluláris** sejtjei a 3. agykamrától távolabb, laterodorzálisan helyezkednek el, és főként két hormont, az AVP-t és az oxitocint (OT) termelik [33]. Attól függően, hogy a két hormon közül melyik a domináns, vazopresszinerg és oxitocinerg sejteket különböztetünk meg, de mindkét magnocelluláris sejtípus további molekulákat is termel [34] (lásd még 10. táblázat). Axonjaikon keresztül hormonjaikat a hipofízis hátsó lebenyébe (neurohipofízis, neuronal lobe, NL) juttatják, ahol tárolódnak és különféle stimulusokra a vérbe kerülhetnek.

2.2.1.2. Kortikotropin elválasztást serkentő hormon (CRH)

Az emlősök többségében a CRH az első számú molekula, amely a hipofizeális ACTH elválasztását fokozza. A KPI-ben a legnagyobb CRH sejtpopulációt a PVN parvocelluláris neuronjai adják. Normál körülmények között a sejtestekben CRH csak nagyon kis mennyiségben mutatható ki, míg az ME zona externa-hoz (ZE) futó axonokban jelentős a hormonmennyiség [35]. A KPI-ben CRH termelő sejtek megtalálhatóak még a supraoptikus (SON), a periventricularis és mediális preoptikus régióban. Extrahipotalamikusan főként az agykéregben, az amigdala centrális magjában, a locus coeruleusban és a kisagyban mutathatók ki CRH sejtek [36]. Ezen kívül a perifériás szervekben is, mint például a placentában, a herében, a mellékvesék velőállományában, a petefészkekben, tüdőben is kimutatható CRH jelenléte [37].

Korábbi vizsgálatok két receptor jelenlétét tárták fel, melyek felelősek a CRH hatásainak közvetítésében.

Az **1-es típusú CRH receptor (CRH-R1)** elsősorban az AL-t alkotó sejtek membránjában található meg. Előfordul még az amigdala mediális és bazolaterális magjában, a nagyagykéregben, a kisagy sejtjeiben [38, 39].

A **2-es típusú CRH receptorok (CRH-R2)** kisebb affinitást mutatnak a CRH irányába, de más, részben szekvencia homológ anyagokat, így például urokortinokat nagy affinitással kötnek meg. Funkcionális változatai közül a CRH-R2 α - főleg szubkortikálisan, szinte kizárólag a limbikus struktúrákban van jelen, míg a CRH-R2 β perifériás elhelyezkedésű [40, 41].

A stressz által indukált HHM tengely aktivációban a CRH-R1 tölt be központi szerepet és ez a receptor tehető felelőssé a stresszhez kapcsolható viselkedési elemek megjelenésért is. Ezt CRH-R1 génkiütött (knockout, KO) egerekkel végzett kísérletek is alátámasztják. Ezek az egerek a csökkent mértékű HHM tengely stresszreaktivitást mutatnak, valamint különféle viselkedésteszt során csökkent szorongás is kimutatható bennük. Hasonló eredményeket mutatnak a szelektív CRH-R1 antagonistákkal végzett kísérletek is [42-44].

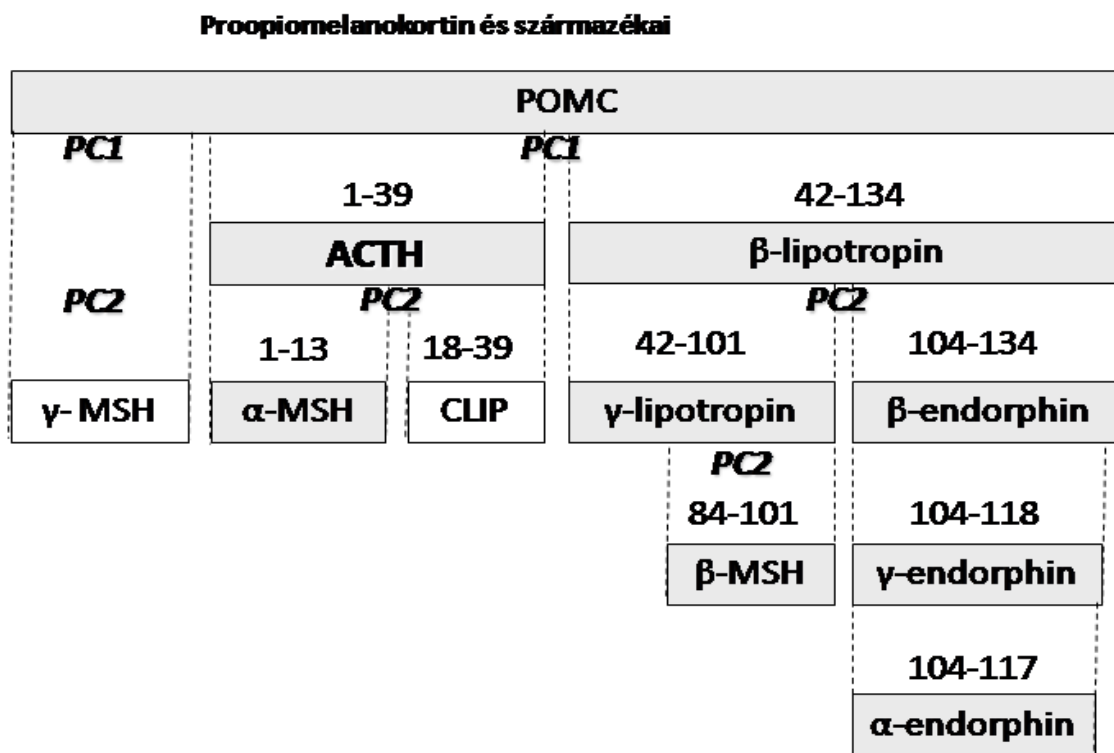
2.2.2. A hipofízis

A HHM tengely következő eleme, a hipofízis, kettős eredetű szerv, amely a koponya töröknyergében (sella turcica) helyezkedik el. A szerv hátulsó lebenye (NL) idegi eredetű, míg az AL hám eredetű, és funkcionálisan is két részre különül. Míg az NL a hipotalamusz magnocelluláris sejtjeiben termelődő AVP-t és OT-t raktározza, addig az AL a hipotalamusz parvocelluláris sejtjeiből származó serkentő és gátló hormonok hatására saját hormonok termelésével reagál. Ezen hormonok a nagyvérkőn keresztül a perifériás szervek hormontermelését szabályozzák. A stressz szempontjából a CRH/AVP szabályozás alatt álló kortikotróp sejtek fontosak, melyek ACTH-t termelnek.

2.2.2.1. Adrenokortikotróp hormon (ACTH)

Az ACTH egy 39 aminosavból álló egyláncú polipeptid, amely egy prekursor molekula, a **proopiomelanokortin (POMC)** részeként termelődik (3. ábra). A molekuláris átalakulások során a prekurból 3 fő termék hasad ki prohormon konvertáló enzim (prohormone convertase enzyme, PC) segítségével. Az első az N-terminális fragment, melyből később az enzimatis hasítások során a középső lebenyben a γ -melanocita stimuláló hormon (melanocyte-stimulating hormone (MSH)) lesz. A második maga az ACTH, melyből a hipofízis közti lebenyében α -MSH

és kortikotropin-szerű középső lebeny hormon (CLIP) hasad ki. A harmadik pedig a β -lipotropin (β -LPH), amelyből a középső lebenyben további hormonok, a γ -LPH (ebből később a β -MSH) és a β -endorfin (ebből később a met-enkefalin) vágódik ki.



3. ábra A POMC molekula és a belőle kihasadó peptidek (a számok az POMC aminosavszámozását jelzik; Zelena és Makara, 2011, 3. ábrája alapján).

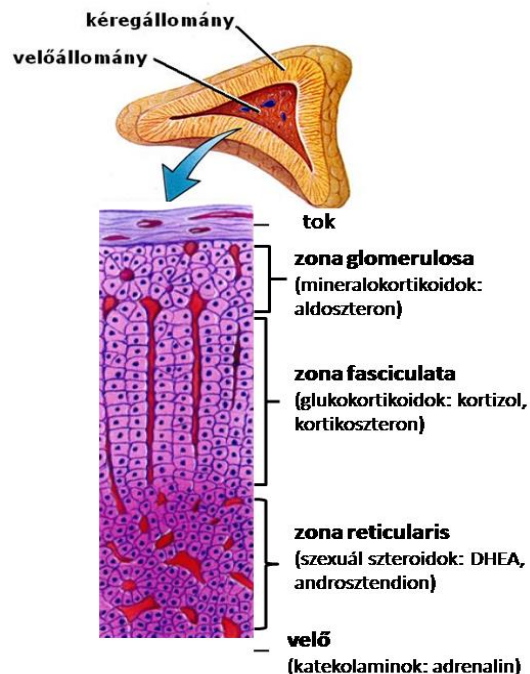
Az AL-ből felszabaduló ACTH a mellékvese kérgének mindhárom zónájában fokozza a hormontermelést és szekréciót. Fokozza a mellékvese kérgi sejtjeinek koleszterin felvételét, és a szteroid hormonok szintézisének limitáló lépését, katalizálja a koleszterin-pregnenolon átalakulását is. Az ACTH kötéséért felelős receptor az úgynevezett *melanokortin receptor család* tagja [45]. Az ACTH a melanokortin receptor 2 (**MC2R**) specifikus agonistája. MC2R-ok legnagyobb mennyiségben a mellékvese-kéreg zona fasciculata rétegében találhatók, de a zona glomerulosa és a zona reticularis rétegek sejtjeiben is kimutatható a jelenlétük (lásd 2.2.3.2.). A mellékveséken kívül például csontképző oszteoblaszt sejtek is kifejezik a felületükön [46, 47], ahol a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor termelését fokozzák [48]. További extraadrenális szerepét lásd 6.2.1.1. fejezetben.

2.2.3. Mellékvese

A tengely harmadik szintje, a mellékvese, fejlődéstani szempontból szintén összetett szerv. A kéregállomány a mezoderma származéka, míg a velőállomány neurális ektoderma eredetű (4. ábra) [49].

2.2.3.1. A mellékvese velőállománya

A velőállományt kromaffin sejtek alkotják, melyek a szimpatikus idegrendszer részét képezik (szimpatoadrenomedulláris rendszer, SAS). Hormonjai (5. ábra) hozzájárulnak a stressz-reakció első fázisának (a Cannon-féle vészreakciónak) az eseményeihez. A sejtek 80%-a adrenalint (epinephrine,



4. ábra A mellékvese szerkezete (saját ábra)

epinefrin), míg a maradék 20% elsősorban noradrenalint (norepinephrine, norepinefrin) választ el, de a szekréciós granulumok egyéb molekulákat (chromogranin, adenosin-5'-trifoszfát (ATP), enkefalin) is raktároznak. A kromaffin sejtek produktumai a gerendák közötti térbe (szinuszoidok) ürülnek, majd a vérkeringés útján a megfelelő célszervhez jutva fejtik ki hatásukat [50].

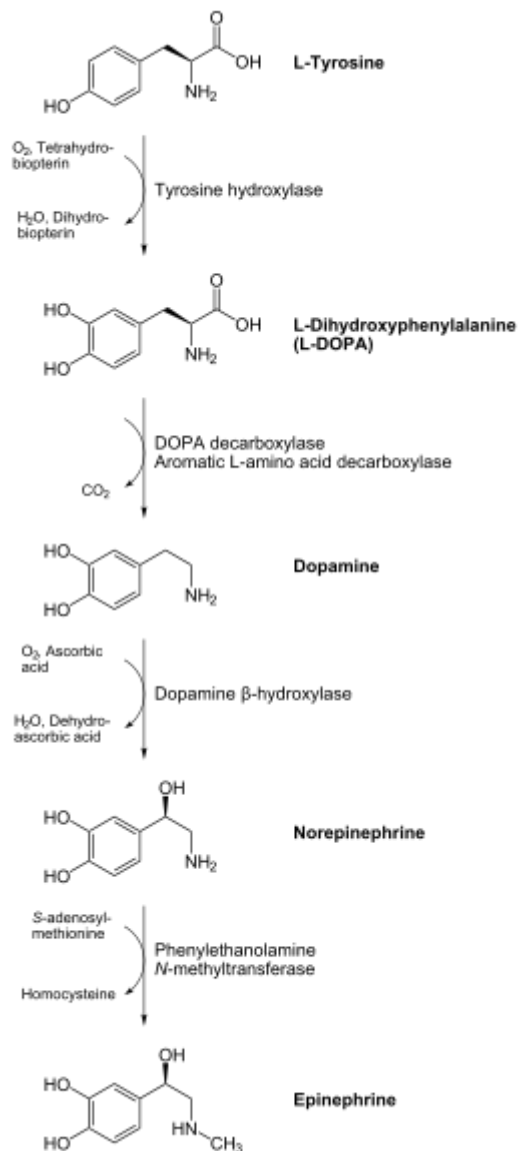
2.2.3.1.1. Katekolaminok és receptoraik

Az **adrenalin** egyszerű aminosav-származék (5. ábra). Hormon, neurotranszmitter és szimpatomimetikum, a szimpatikus idegrendszer hatását közvetíti. A szervezet tartalékainak mozgósítását katabolikus folyamatok serkentésével éri el a májban és az izmokban [51], növelve ezáltal a vércukorszintet és a vér zsírsav-koncentrációját. Hatására a bőr és a belső szervek kisartériái összehúzódnak, míg a vázizomzat erei tágulnak, így biztosítva az izmok hatékonyabb vérellátását.

A mellékvese-velő másik hormonja, a **noradrenalin**, szerkezetileg a N atomon lévő metil csoport hiányában tér el az adrenalintól (5. ábra). Az adrenalinhoz hasonlóan részt vesz a Canon-féle vészreakció kialakításában, elősegíti a glükóz felszabadulást, növeli az izomtónust. Ugyanakkor jobban szűkíti az ereket, és növeli a szívfrekvenciát. A noradrenalin jelentős a hangulat meghatározásában is. Az alacsony noradrenalin termelés depresszió, míg túltermelés mánia kialakulását segíti elő.

A katekolaminok hatásait **adrenoceptorok** közvetítésével fejtik ki [52]. Mindegyikük G protein kapcsolt, de másodlagos jelátviteli utak szerint két fő csoportba (α , β), és azon belül is további alcsoportokba (α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , β_3) oszthatók. Míg a noradrenalin főleg az α_1 és α_2 receptorokon fejt ki hatásait, addig az adrenalin mind az 5 receptortípuson képes hatni. Az α_1 receptorok legnagyobb mennyiségben a bőrben, bélrendszerben, vesében és az agyban találhatók. Elsősorban a simaizom összehúzódásért felelősek pl. az erekben. Az α_2 receptorok nagy mennyiségben találhatók a hasnyálmirigyben, tápcsatornában és a KPI-ben [53]. Autoreceptorként is funkcionálnak, a preszinaptikus idegsejten a neurotranszmitter felszabadulását gátolják [54]. A β receptorok növelik a szívizomsejtek összehúzódását (β_1) valamint a glükogenolízist és fokozzák a simaizom relaxációt pl. a légutakban (β_2).

A mellékvesevelő hormonjai nagy mennyiségben érhetik el a kéregállományt, valamint a kéreg a splanchnikus idegeken keresztül szimpatikus beidegzést is kap. Így a katekolaminok képesek lehetnek a GC elválasztás szabályozására [55-57].



5. ábra Katekolaminok szintézise (http://foka.blog.hu/2009/12/04/adrenalin_es_turbulencia).

2.2.3.2. A mellékvese kéregállománya

A mellékvese-kéreg 3 részre tagolódik (4. ábra).

A külső **zona glomerulosa** termeli a só- és vízháztartásért felelős mineralokortikoidokat (MC). A három réteg közül ez a legvékonyabb, mikroszkópos felépítése is eltér a másik kettőtől. Sejtjei fészkekbe rendeződnek és hormonjaik sejtszomszédokat körülvevő szinuszoid kapillárisokon keresztül jutnak a keringésbe [58].

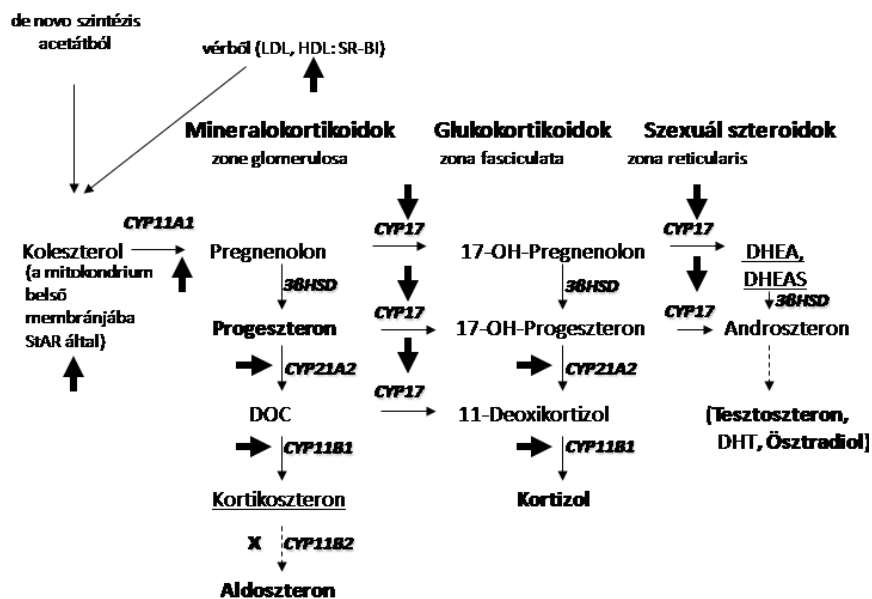
A középső **zona fasciculata** a stressz-tengely véghormonjának tekintett glükokortikoidok (GC) termelését végzi. Ez a legvastagabb réteg, sejtjei sokszögűek, sejtszomszédosulások helyett a felszínre merőleges gerendákat képeznek. A megtermelt hormonok a gerendákkal párhuzamosan futó szinuszokba ürülnek [59].

A belső **zona reticularis** réteg szexuáliszteroidokat termel (elsősorban dehidroepiandroszteront (DHEA) és androszténdiont). A DHEA szulfatálódásának, azaz a DHEAS termelődésének kizárólagos helye a szervezetben ez a réteg. A DHEA antiGC hatása miatt számos tanulmány szerint a kortizol/DHEA arányt célszerűbb vizsgálni pusztán a GC szintnél [60]. A réteg sejtjei hálózatos sejtkötegeket és közöttük futó szinuszokat alkotnak [61].

Ezen túl GC-k (és más szteroidok is) lokálisan számos szervben is termelődhetnek, például az elsődleges limfoid szervekben, bélben, bőrben, agyban és feltehetően a szívben is. Ezt a szintetizáló enzimek jelenléte, valamint a mellékveseiktás után is lokálisan magas GC szint bizonyítja [62]. A bél epiteliális sejtjei a tápcsatorna szteroidjainak legfontosabb forrásai és valószínűleg a helyi gyulladásos folyamatok szabályozásában vesznek részt [63].

2.2.3.2.1. Glükokortikoidok

A GC-k nevüket egyik elsőként leírt funkciójukról (glükóz anyagcsere szabályozása) kapták Selyétől [64]: glucose + cortex + steroid. A legfőbb GC hormon emberben a kortizol, míg rágcsálókban a **kortikoszteron**, melyek előállításuk a szteroidogenezis során valósul meg (6. ábra). A folyamat kiindulási molekulája a koleszterol, amiből progeszteronon és deoxi-kortikoszteronon (DOC) keresztül kortikoszteron képződik [65]. A kortizol csupán egy, a 17. szén atomhoz kapcsolódó hidroxil csoportban tér el ettől.



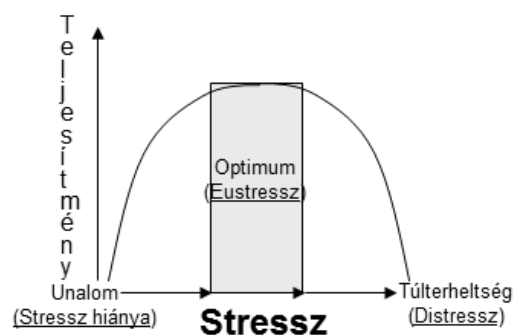
Rövidítések: LDL: low density lipoprotein, HDL: high density lipoprotein, SR-BI: scavenger receptor, class B, type I, StAR: steroidogenic acute regulatory protein, DOC: 11-Deoxycorticosterone, DHEA: Dehydroepiandrosterone, DHEAS: DHEA sulfate, DHT: Dehydrotestosterone, CYP: cytochrome P 450, HSD: hydroxysteroid dehydrogenase

A zárójelben szereplő molekulák nem szintetizálódnak a mellékvesében. Az aláhúzott molekulák a fő szteroid hormonjai a mellékvesének (emberben kortizol, rágcsálókban kortikoszteron a fő glukokortikoid). Az ACTH stimuláló \uparrow és gátló \times hatásai jelölve

6. ábra Szteroid szintézis lépései (Zelena és Makara, 2011, 4. ábrája alapján).

A GC funkciói több csoportba sorolhatjuk [66]: a korai hatások közé tartoznak a (1) serkentő, védekezést fokozó folyamatok, míg a késői hatások között szerepelnek a (2) szupresszív, gátló hatások, melyek a hormonális „túllövést” akadályozzák meg [67], valamint a (3) preparatív és (4) permisszív hatások, melyek a következő stresszor előtt hatva, az arra való felkészülést segítik, a „rendelkezésre állást” biztosítják. Az akut és krónikus hatások az egyes szervek, szervrendszerek esetén átfedést mutatnak [65]. A direkt hatásokon túl más hormonok, molekulák hatásait is kiterjedten befolyásolják.

A homeosztatikus egyensúly értelmében a GC-knak van egy optimális szintje. A túl sok, de a túl kevés is betegségekhez vezethet (fordított U mintázat [68]; 7. ábra). Ennek egyik lehetséges celluláris mechanizmusa, hogy számos sejten kétféle (glüko- (GR) és mineralokortikoid (MR), lásd később) receptor is lehet, és ezek ellentétes hatásokat generálhatnak.



7. ábra Stressz U alakú hatása (Zelena, 2015, 1. ábrája alapján).

Másik, elsősorban a perifériás szervekben megvalósuló mechanizmus, hogy a GC-k mennyiségüktől függően ellentétes hatást gyakorolhatnak a generált szignálmolekulák (pl. citokinek) mennyiségére, illetve megváltozathatják a célszervek szignálmolekulák iránti érzékenységét.

A klinikumban kiterjedten használják a GC-ket az **immunrendszert** gátló hatásaik miatt gyulladásgátlásra, valamint a szervezet fokozott immunreakciónak mérséklésére is (például allergiás megbetegedések esetén vagy szervtranszplantáció során a kilökődés ellen) [69]. Fontos hangsúlyozni, hogy a terápiás hatással ellentétben, a többi szervrendszerre gyakorolt hatással összhangban a GC alapszintje szükséges a normális, adaptív immunválasz kialakításához [70]. Akut stresszorok hatására elsődlegesen a katekolaminokon keresztül aktiválódik az immun rendszer. A katekolaminok termelődéséhez és hatásaihoz pedig GC-k szükségesek (permisszív hatás). Krónikus GC emelkedés esetén azonban az immunszuppresszív hatások dominálnak.

A **központi idegrendszeri hatások** közül a hippocampusz, mint a GC visszacsatolás fő helye, kitüntetett szereppel bír. Ebben a vonatkozásban is legismertebbek a krónikus GC emelkedés negatív (atrofizáló: csökkent neurogenesis és dendrit tüske mennyiség), memóriarontó hatásai [71]. A GC-k így számos érzelmi zavar (szorongás, depresszió [72]), de más pszichiátriai kórkép (pl. skizofrénia) kialakulását is elősegíthetik.

Ezzel ellentétben a GC-k szintjének akut emelkedése fokozza a szinaptikus plaszticitást, csökkenti az apoptózist és elősegíti a hippocampusz-függő tudati működéseket, mintegy a figyelmet a veszélyre fókuszálva [70, 73]. Valóban, a tanulási folyamatok (memory consolidation) enyhén stresszes állapotban fokozódnak, viszont az emléknymok felidézése (memory retrieval) sokszor zavart szerved [74].

Az általános vélekedés szerint a stressz okozta túlzott GC emelkedés patológiás elváltozásokat okoz, de az U alakú hatásspektum arra utal, hogy a **csökkent stressz-reaktivitás** legalább olyan káros lehet [75]. Például azokban az egyéneknél, akik egy traumatizáló élményre alacsonyabb GC szekrécióval reagáltak, később nagyobb valószínűséggel alakult ki poszttraumás stressz szindróma (PTSD) [76]. A GC-kre adott csökkent válasz legszembetűnőbb példái a depressziósok, akik a dexametazon szuppressziós teszt során nem mutatnak olyan fokú HHM tengely gátlást a szintetikus GC-re, mint a normális egyének (csökkent érzékenység a GC-k negatív visszacsatolására) [77, 78].

A GC-k hatásainak további leírását lásd a következő cikkemben: [79].

Néhány szerző úgy gondolja, hogy a fenti adatok extrém (túl alacsony vagy túl magas) GC szintek hatásainak tanulmányozásából születtek, azaz nem tükrözik kellően a fiziológiás szerepet [80]. A pontos fiziológiás hatás feltárása még várat magára.

A HHM tengely működésének megfelelően a GC elválasztás legfontosabb, tankönyvekben kizárólagosan említett szabályozója az ACTH. Kutatásaink egyik fő kérdése további lehetséges szabályozó faktorok feltárása volt.

2.2.3.2.2. Mineralokortikoidok

A mineralokortikoidok közül emberben és rágcsálókban az **aldoszteron** a legjelentősebb. Előállítás a GC-knál bemutatott szteroidogenezis során kortikoszteronból történik [81] (6. ábra).

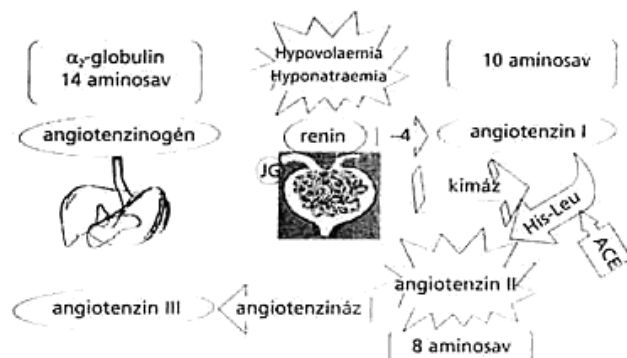
Ahogy neve is utal rá (mineral + cortex + szteroid) fő **funkciója** a víz és elektrolit háztartás szabályozása [82]. A vesék nefronjainak tubulusaiban, az összekötő szakaszon és a gyűjtőcsatornák kortikális szakaszán fokozza a Na^+ ionok visszaszívását, a disztális tubulusban a K^+ ürülését szabályozza. Mivel ezen funkciókat a Na^+/K^+ -pumpa fehérjék mennyiségének megnövelésével éri el, a hatás késleltetve jelentkezik [83, 84].

Újabb eredmények számos vesén kívüli MC hatásról számolnak be [85]. Többek között elősegítik a gyulladásos folyamatokat (proinflammatory), elsősorban a makrofágokra gyakorolt hatásuk révén, de az endotél sejtek funkciózavarát, valamint kardiovaszkuláris átrendeződést is okoznak. A metabolikus szindrómában is fontos szerepük van az inzulin rezisztencia elősegítése és a zsírszövetre gyakorolt hatáson keresztül. Az aldoszteron szorongást és depressziót fokozó hatása is ismert, melyet elsősorban pozsonyi partnerünk, Daniela Jezova nemcsak állatkísérletes [86-89], hanem humán vizsgálatai is alátámasztják mind egészséges önkénteseken [90], mind depressziósokon [91]. Továbbá más szerzők is emelkedett aldoszteron szinteket találtak depressziós betegekben [92, 93]. Sőt, egy korai tanulmány az MR antagonistá spironolactont is hatásosnak találta maniás depresszióban [94].

Az aldoszteron termelés elsődleges **szabályozása** a renin-angiotenzin rendszeren (RAS) keresztül történik (8. ábra). A vértérfogat csökkenése és a vérnyomás esés hatására a vese juxta glomeruláris apparátus sejtjei prorenint termelnek. Utóbbi aktivált formája, a renin, a májban termelődő angiotenzinogénből angiotenzin-I-et állít elő, amit az endotélsejtekben jelen lévő angiotenzin konvertáló enzim (ACE) angiotenzin-II-vé alakít. Az angiotenzin-II fokozza az aldoszteron elválasztást, rajta keresztül közvetve növelve a vérnyomást, illetve érösszehúzódást

fokozó hatásával közvetlenül is elősegíti a homeosztatikus egyensúly visszaállítását [95, 96]. A fentiekből kifolyólag a RAS a szív és érrendszeri problémák (elsősorban magas vérnyomás) esetén a kezelések kiváló célpontja [97, 98].

Különböző stresszorok hatására GC-k mellett jelentős mennyiségű aldosteron is felszabadul [99]. Akut és krónikus stressz során az aldosteron felszabadításában az angiotenzin II-n túl az ACTH-nak is nagy szerep jut [100, 101]. ACTH hiányában a zona glomerulosa diszfunkciója és ezzel párhuzamosan az aldosteron produkció jelentős csökkenése is megfigyelhető [102].



8. ábra A renin-angiotenzin-rendszer (Orvosi Hetilap 144. évfolyam (2003.) 18. száma (Suppl. 1) 892-895. oldal)

2.2.3.2.3. Glükó- és mineralokortikoid receptorok

A GC-k és MC-k lipid természetüknél fogva szabadon képesek a sejtek membránján átdiffundálni, fő hatásukat intracelluláris magreceptorokon keresztül fejtik ki [103]. Két receptortípus van, melyek egyaránt képesek GC-eket és MC-eket is megkötni, de affinitásuk, idegrendszeri eloszlásuk jelentősen eltér egymástól. Érdekes módon más szteroidok, például a gesztagén progeszteron is jelentős affinitással kapcsolódik ezen receptorokhoz, így megakadályozva saját ligandjuk kötését, azaz antagonistá hatásokkal bír [104].

A **II. típusú (glükokortikoid) receptor (GR)** alacsony GC affinitással rendelkezik ($K_d=2,5-5$ nM). Szervezetünk csaknem összes sejtjén megtalálható. Az agyban legnagyobb mennyiségben az agykéregben, hippokampuszban, amigdalában, laterális szeptumban, PVN-ben, locus coeruleusban, ráfemagvakban található, de az agytörzsben, kisagyban és a talamusz egyes területein is kifejeződik [105]. Teljes test GR KO állatok megszületnek, de hamar elpusztulnak légzési elégtelenség következtében. A GR gátlása (pl. Mifepristonnal) Cushing-szindrómában csökkenti a metabolikus szindrómát (hiperglikémiát, inzulin rezisztenciát, elhízást).

Az **I. típusú (mineralokortikoid) receptor (MR)** elsősorban aldosteron megkötésére szolgál, de hatékonyan képes GC-eket is megkötni ($K_d \approx 0,5$ nM). Legnagyobb mennyiségben a vesékben található, ahol a só- és vízháztartás szabályozásában vesz részt. Az agyban a GR receptoroknál kisebb mennyiségben van jelen, elsősorban a limbikus rendszer elemeiben (amigdala, hippokampusz, laterális szeptum), míg a PVN-ben és az AL-ben egyáltalán nem

mutatható ki [106-108]. Az MR-k aktivációja elősegíti a gyulladást, a kardiovaszkuláris átrendeződést, valamint befolyásolja a zsírszövet differenciálódását és anyagcseréjét is [109, 110]. Részt vehet mind az MC-k, mind a GC-k metabolikus hatásainak közvetítésében.

Mindkét receptor a sejtmagba jutva a DNS megfelelő régiójához (glucocorticoid response element) kötődve transzkripciós faktorként szabályozza (serkenti vagy gátolja) több ezer gén átíródását [111-113]. Más transzkripciós faktorok is szükségesek a megfelelő működéshez és az átírt molekulák maguk is további folyamatokat stimulálhatnak vagy gátolhatnak [114]. A GC válasz sokszínűségét fokozza az egyetlen receptorgénből "alternatív splicing" révén keletkező változatok, valamint a poszttranszlációs módosulások hatására keletkező számos receptor-altípus jelenléte [115].

Az előbb említett mechanizmuson keresztül valósul meg a GC-k időigényes, genomiális hatása [116]. Azonban a GC-k néhány perc alatt bekövetkező, génexpressziótól független magatartási válaszokat is képesek kiváltani, amiket gyors, **nem-genomiális hatásoknak** nevezünk [117-120]. Utóbbi mechanizmusa kevésbé ismert, de több lehetséges mediátort leírtak, melyek a GC-k nem-genomiális hatásainak közvetítésében részt vehetnek. Elképzelhető, hogy a genomiális mechanizmust is közvetítő receptorok rendelkezhetnek ezzel a hatással. Néhány kísérletben (pl. szignalizáció, AVP elválasztás vizsgálata) a GR receptorok gátlása a gyorsan megjelenő GC hatásokat is blokkolta [121, 122], viszont az esetek többségében gyors hatások megjelenése független volt a GR receptorok működésétől [123]. Utóbbi gyors hatások egy részéről beigazolódott, hogy Ca^{2+} jelenlététől függenek [122], míg más hatásokra ez nem volt érvényes [120]. Egyes gyors hatások dexametazonnal is kiválthatók [120], de gyakran csak a szervezetben jelen lévő GC-k idézik elő [124].

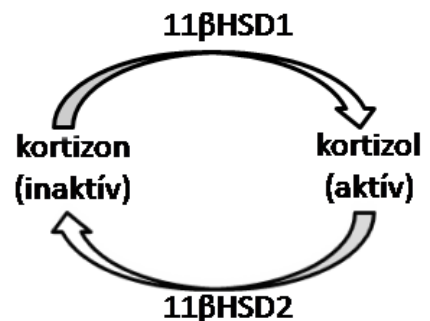
Az MC vonatkozásában is leírtak hasonló, gyors, nem genomiális hatásokat [125-127]. Az MR antagonistá spironolacton ilyen nem-genomiális hatás révén lehet kardioprotektív [128].

A vérben lévő GC-k mennyisége a 100ng/ml-es (pmol-os) tartományba esik, míg az MC-k koncentrációja pg/ml (fmol-os), azaz köztük kb. 1000-szeres különbség van. A vérben a GC-k 75%-a egy májban termelődő plazmafehérjéhez, a transzkortinhoz (cortisol binding globulin, CBG) kötődve szállítódik, kb. 20%-a aspecifikusan albuminhoz kötődik, bár ez utóbbi nagymértékben függ a táplálkozástól [129]. Csak a maradék, nagyjából 4-5% szabad frakciónak van élettani hatása [130], ennek ellenére a legtöbb módszerrel (pl. radioimmunoassay (RIA)) a teljes plazmakoncentrációt mérjük. Bár a CBG szintje akut stresszben drámaian nem változik

[131], nemcsak passzív résztvevője a folyamatnak. CBG KO egereken végzett kísérletek azt bizonyítják, hogy a GC-k gyors hatásaihoz (pl. memória) szükség van a kötőfehérjére, ami megvédi a GC-eket a lebontástól [132]. A CBG a szexuáliszteroidok erőteljes befolyása alatt áll: szintjét az ösztrogének megemelik, a progeszteron pedig kötődni képes hozzá [133]. Ennek hatására a nőkben magasabb összGC szinteket lehet mérni, ugyanakkora szabad aktivitás mellett. Ezt támasztja alá, hogy a nyálból mért kortizol szintek (amelyek a szabad hormonszintekkel korrelálnak) a nőkben még alacsonyabbak is lehetnek a férfiakban mérhetőknél [90].

Az MC-k 40%-ban szabad formában vannak (17% CBG-hez, 47% albuminhoz kötött, bár néhány tanulmány specifikus aldosteron kötő fehérjéről is beszámolt [134, 135]), de az aktív, szabad GC/MC arány még így is 100-szoros. Ezért MC hatások csak akkor tudnak létrejönni, ha a GC-k mennyisége helyileg csökken.

Valóban, az MC célszervekben (pl. vese) található **11-β-hidoxiszteroid-dehidrogenáz 2** (11βHSD2) inaktiválja a GC-akat (mind a kortizolt, mind a kortikoszteront), melyek így nem képesek MR receptorhoz kötődni [136] (9. ábra). Ezzel szemben a 11-β-hidoxiszteroid-dehidrogenáz 1 (11βHSD1) a GC-k aktiválását végzi, így fokozva a GC célszervekben (pl. máj) a kívánt hatást. A jelenséget prereceptor specificitásnak nevezzük [137]. Nagy mennyiségű kortizol jelenléte esetén (pl. Cushing-szindróma) előfordulhat, hogy az enzim nem képes az összes molekulát inaktiválni, így a GC-k MC-szerű hatásokat is létrehozhatnak [138]. Néhány publikáció alátámasztja, hogy egyes esetekben az aldosteron is képes lehet GR-en keresztül hatásokat kifejteni [139].



9. ábra Prereceptor specificitás (saját ábra).

2.3. A stresszfolyamatok sajátosságai

2.3.1. A perinatális kor

Az a hit, mely szerint a stresszhez és szorongáshoz vezető anyai érzelmek negatívan hathatnak a magzat fejlődésére (pl. fejlődési rendellenességek), a folklórban, és kulturális hagyományokban gyökereznek [140]. A tudomány megpróbált választ találni rá, hogy lehetnek-e valós alapjai ezeknek a hiedelmeknek, az anyai stressz és szorongás milyen mértékben befolyásolhatja a terhesség kimenetelét, a csecsemő későbbi fejlődését [141]. Az eredmények, és

a belőlük levont következtetések is sokrétűek. Egyes esetekben az anyai stressz látványosan károsítja a fejlődést [142, 143], más kutatások szerint viszont megkönnyíti az utódok alkalmazkodáson alapuló fejlődését [144, 145]. (A stressz pozitív és negatív hatásairól a szaporodásra lásd: [146] saját összefoglaló).

Az eredmények jobb megértéséhez szükséges a magzati és születés körüli (perinatális) stressz során lejátszódó élettani folyamatok, elsősorban a HHM tengely működésének alapos feltérképezése. A HHM tengely csak érési folyamaton átesve nyeri el a korábbi fejezetekben részletesen bemutatásra került felnőttkori formáját [147-149]. Működése az egyedfejlődés során jelentősen változik, és érzékenységet a magzati, perinatális életesemények erősen befolyásolják.

Patkányoknál a HHM tengely már a késő magzati korban is működőképes. A születés körüli időszakban rágsálóknál magas kortikoszteron szint mérhető (a HHM tengely fokozott működése és az alacsony CBG szint miatt), ami a világra jövetelt követő pár nap alatt lecsökken, majd két héten át alacsonyan marad [150, 151]. Mivel ezen időszak alatt a különféle stresszorok a felnőttben mérhető aktivációhoz képest csak mérsékelt HHM működést váltanak ki, így stressz hiporeszponzív periódus névvel (**SHRP**) szokás illetni ezt az időszakot [147, 152]. Hasonló jelenség csecsemőknél is megfigyelhető és fontos a szerepe a HHM tengely érésében [148]. Az SHRP létrejöttének mechanizmusa nem pontosan tisztázott, de kialakulásában anyai gátló faktorok [153], a születés előtt megemelkedett kortikoszteron szint gátló visszacsatolása [147, 151] és a hipotalamusz hormonjainak csökkent termelődése és transzportja is közrejátszhat [154]. Az utóbbit támasztja alá, hogy perinatálisan a CRH gén nem fejeződik ki a felnőtteknél látott mértékben [155]. Ezzel ellentétesen az AVP gén kifejeződésének szabályozása meglehetősen korán éretté válik [155, 156], ez pedig arra enged következtetni, hogy az SHRP alatt az AVP a fő faktor, amely az ACTH termelődését és elválasztását szabályozza, de kísérleteink kezdetekor ennek bizonyítása még váratott magára [153, 157].

2.3.2. Nemi különbségek

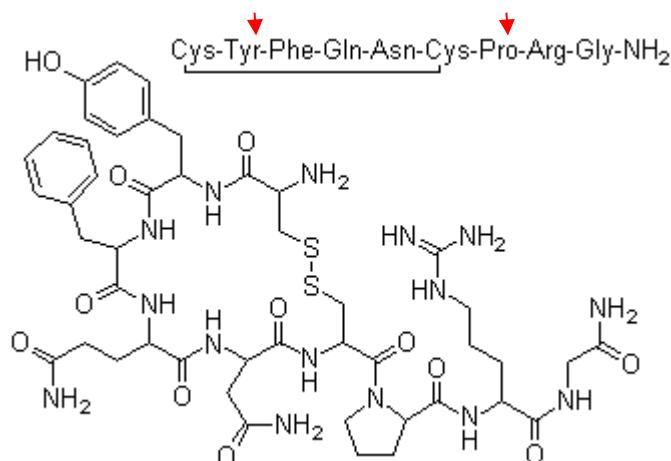
A nemek kérdése nemcsak a mindennapi életünkben kapott kiemelt szerepet az utóbbi időben (lásd nők pozitív diszkriminációja), hanem a kutatásban is. Leidenben 2014-ben egy szimpóziumot is szerveztek „Gendered innovation” címmel [158], és számos újság kéri, hogy a cikk címében a vizsgálati alany neme is feltüntetésre kerüljön (pl. Endocrinology: Reporting the Sex of Research Animals).

A nemi kromoszómák, hormonok alapvetően befolyásolják minden egyes sejtünk aktivitását, így az idegsejteket is [159], ezért nem csoda, hogy egyes pszichiátriai betegségek is (mint például az egyik leginkább stressz-függő depresszió) erőteljes nemi eltéréseket mutatnak [72]. Ez sürgetővé teszi az élettani folyamatok összehasonlítását a hím és nőstény egyedekben. Annál is inkább, mert a neuroendokrinológiai kutatásokban (de általában az állatkísérletekben is) elsődlegesen hím állatokat vizsgálunk, mivel a nőstényekben a ciklust is figyelembe kellene venni (nemcsak meg kellene vizsgálni, hanem célszerű lenne minden ciklusfázisban lévő állat bevonása, ami a patkányok 4 napos ciklusával számolva négyszer annyi vizsgálati alanyt eredményezne).

2.3.3. Anyák HHM tengelye

Irodalmi adatok szerint a női szervezet a terhességet és a szoptatást mint egy krónikus stressz állapotot éli meg. Patkányokban a szülést követő időszakban a nyugalmi HHM aktivitás ugyanúgy fokozott, mint krónikus stressz során [160-162]. Ugyanakkor különböző stresszorok (pszichológiai (például hanghatás, elektromos sokkolás, kényszerített úszás (forced swim test, FST) vagy fizikai stressz (például intraperitonealis (ip) só vagy LPS injekció, éter belégzése)) hatására bekövetkező HHM tengely-aktiválódás kisebb mértékű, mint a szűz nőstényeknél [162]. Kevés hasonló jellegű humán adat áll rendelkezésre ezzel kapcsolatban: Altemus alacsonyabb ACTH és kortizol szintet mért 20 perces fizikai terhelés követően szoptató anyákban [163], valamint pszichogén stresszor hatására azoknál az anyáknál, akik tápszerrel etették csecsemőjüket magasabb kardiovaszkuláris reakció volt tapasztalható, mint akik szoptattak [164].

2.4. Vazopresszin (AVP)

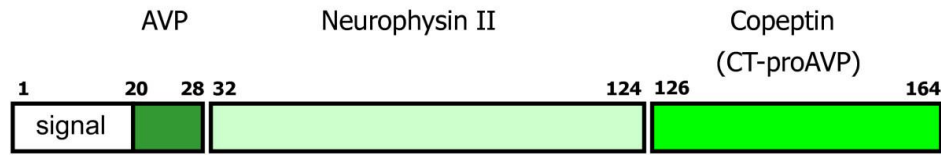


10. ábra Az arginin-vazopresszin szerkezete (<http://www.buyersguidechem.com/struc/1/113-79-1.jpg>).

Az AVP 9 aminosavból álló polipeptid, melynek szerkezete mindössze 2 aminosavban tér el az OT-tól (10. ábra, piros nyilak). Egy ősi molekula, mely a gerinctelenekben is megtalálható és a prekursor fehérjéjét kódoló gén az OT-tól kb. 700 millió évvel ezelőtt vált el [165]. Nélkülözhetetlen az élethez, amit az is jelez, hogy teljes hiánya knockout (KO) egerekben életképtelen utódokhoz vezet (<http://www.mousephenotype.org/data/genes/MGI:88121#section-associations>). Oliver és Schafer figyelték meg először az NL kivonat érösszehúzó hatását 1895-ben (innen a neve), míg vízvisszatartó szerepére 10 évvel később derült fény. Az AVP 1954-ben történt szintézise után sikerült bizonyítani, hogy mindkét hatásért ez a molekula felel, s ezért az AVP elnevezés mellett antidiuretikus hormonnak (szomjúsághormon) is nevezik [166].

Előállítása egy nagyobb méretű prekursor molekula, a preproresszofizin hasításával történik (11. ábra). Az előmolekulát kódoló gén 3 exonból áll [167]. Az első exon kódolja a szignálpeptidet, az AVP-t és a neurofizin 2 molekula N-terminális részét. A második exon kódolja a neurofizin 2 középső szakaszát, míg a harmadik exon a neurofizin 2 C terminális részét és a C-terminális glikoproteint (copeptin). A megtermelt preproresszofizin az endoplazmás retikulumon és a Golgi hálózaton keresztül vezikulumokba gyűlik, és axonális transzportja során keletkezik belőle AVP [168, 169]. Csak azokban a sejtekben tud AVP keletkezni, akik a megfelelő enzimekkel rendelkeznek [170], így egy adenoasszociált vírus vektor segítségével az agyba AVP-t juttatva specifikus promóter nélkül is csak az eleve AVP-t szintetizáló sejtek fogják kifejezni. Az AVP féléletideje 24 perc, ezért nehéz mérni a plazmaszintjét. Így inkább a hosszabb féléletidejű, stabil **copeptin**-t szokták mérni, aminek szintje jól korrelál a plazma AVP szintjével

[171, 172]. Egyes vélekedés szerint még a GC-knél is jobban jelzi az egyén stresszszintjét, így akut betegségek biomarkereként is szokták használni [167, 173, 174]. A copeptin az idegsejtekben segíti az AVP érését, de KPI-n kívüli szerepe nem ismert.

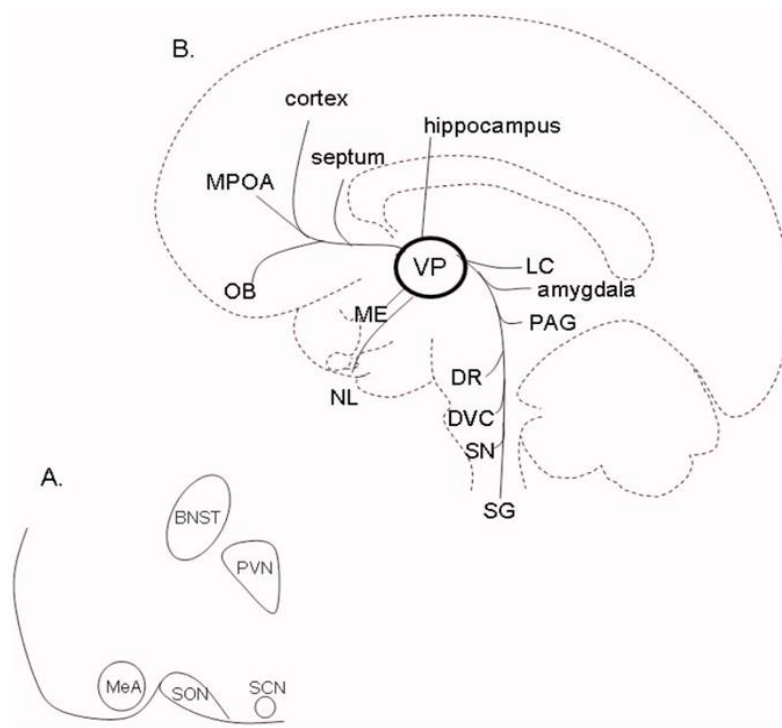


11. ábra A vazopresszin gén (Nickel és mtsai, 2012)

Az AVP fő termelői a hipotalamusz parvo- és magnocelluláris neuroszekréciós sejtjei (PVN, SON, SCN), de más agyterületek pl.: bed nucleus of stria terminalis (BNST) [175] és a mediális amigdala [176, 177] sejtjei is előállítják (12. ábra). Néhány perifériás szervben is szintetizálódik, például a mellékvese kromaffin sejtjeiben, amik a velőben, vagy elszórva a kéregben, elősorban a zona glomerulosa-ban találhatók (4. ábra) [178]. De AVP szintetizáló sejtek megtalálható a petefészekben [179], herékben [180] és a gyomor-bél traktusban is [181].

A PVN és SON magnocelluláris sejtjeiben termelődő AVP a hipotalamo-hipofizeális traktuson, az ME-en keresztülhaladva éri el az NL-t (2. ábra), ahol az úgynevezett Gömöri-féle testekben raktározódik. Az NL felépítése sajátos: rengeteg idegvégződés található itt, de legnagyobb részt gliaszerű sejtek tömegéből áll, melyeknek önálló hormontermelése nincsen, hanem feltételezhetően a szabályozásban játszanak szerepet.

A HHM tengely szabályozása szempontjából a PVN parvocelluláris sejtjeinek van kitüntetett szerepe [28]. 1954-es leírását követően az AVP-t az ACTH felszabadulás fő szabályozójának tartották [182], míg fel nem fedezték a CRH-t. Mivel a régebben domináns Dale-elv szerint egy preszinaptikus sejt mindig csak egyféle ingerületátvivő anyagot termelhet [183], a fő ACTH elválasztás szabályozó molekula, a CRH felfedezése után az AVP stressz-tengely szabályozásában betöltött szerepe háttérbe szorult.



12. ábra A vazopresszin előfordulása az agyban. A. Szintézis helyei B. Projekciók Rövidítések: MeA: mediális amigdala, MPOA: medialis preoptikus area, OB: bulbus olfactorius, LC: locus ceruleus, PAG: periaqueductal gray, DR: dorsal raphe, DVC: dorsal vagal complex, SN: substantia nigra, SG: spinal ganglia (Zelena, 2008, 1.ábra)

Később kiderült, hogy egy idegsejt számtalan neurotranszmittert is termelhet és Dallman és Aguilera elmélete (lásd: 2.1) felvetette, hogy a betegségek kialakulása szempontjából lényeges krónikus stressz folyamatok során az AVP lehet a HHM tengely fő hipotalamikus szabályozója [22, 24, 28]. Ennek hatására az AVP HHM tengely szabályozásában betöltött szerepe ismét előtérbe került.

Az AVP hatását 3 különböző receptor közvetíti (1. táblázat).

A **V1a** altípus a májban, az erek simaizomzatában, herékben és számos más perifériás szövetben található meg. A KPI-ben patkányok esetében a hippocampusz, az SCN, a ventrális tegmentális area, a szubsztancia nigra, a dorzális rafe, colliculus superior, laterális szeptum területén mutatható ki [184].

V1b típusának fő előfordulása a KPI-ben az AL-ben van, ahol a HHM tengely szabályozásában vesz részt [185]. Megtalálható még azonban a szaglógumóban, a hippocampusz CA2 rétegének piramis sejtjeiben, az SCN, a kisagy és a kortex területén is [186]. Előfordul ezen kívül perifériásan a hasnyálmirigy Langerhans-sziget sejtjeiben, a mellékvesében, a vesében is [187].

	Main Location	Mode of Action	Main Role	Available Agonist/Antagonist	Disease
V1a	SM	G _q	Vasoconstriction	[Phe2]OVT F-180 FE202158	Vasodilating hypotension
				Relcovaptan OPC-21268 SR 49059	Cardiac hear failure Raynaud's disease Myocardial infarction Cerebral vasospasm Stroke Dysmenorrhoea Preterm labour
V1b	AL	G _q	HPA axis regulation	d[Leu4,Lys8]VP	?
				SSR149415 Compounds from Organon, GlaxoSmithKline and Ligand Pharmaceuticals	ACTH-secreting tumors Psychiatric disorders (anxiety, depression)
V2	Kidney	G _s	Water retention	DDAVP	Diabetes insipidus
				Tolvaptan Lixivaptan SR121463 OPC-31260	Heart failure Hyponatraemia Renal diseases SIADH Cirrhosis and ascites Ocular hypertension

SM-smooth muscles; AL- anterior lobe of the pituitary; HPA-hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis; ACTH-adrenocorticotrophin; SIADH- syndrome of inappropriate ADH secretion.

1. táblázat A vazopresszin receptorok (Zelena, 2012, 1. táblázat)

A **2-es típusú (V2)** receptor aktiválásának hatására megemelkedik a vese gyűjtőcsatornáiban a sejtek vízáteresztése azáltal, hogy a sejtek apikális membránjában nagy számban jelennek meg az aquaporin-2 molekulák [188, 189]. Fokozódik ezen sejtekben a szabad víz visszavétele, csökken a vizelet mennyisége. Ezt a receptort extrarenálisan egyedül a kisagyban mutatták ki [190].

2.4.1. A vazopresszin fő hatásai

Az AVP hatásaink összefoglalását lásd a következő cikkeimben: [191, 192]

2.4.1.1. Szomatikus hatások

Röviden összefoglalva főbb funkciói a vízvisszatartás a vesében, nagy dózisban a simaizmok kontrakciója [193, 194], a sejtprolifерáció fokozódása [195], metabolikus folyamatok szabályozása [196], csontfelépítés [197], direkt immunszabályozás [198, 199], lázcsillapító [200] és fájdalomcsillapító [201, 202] hatás.

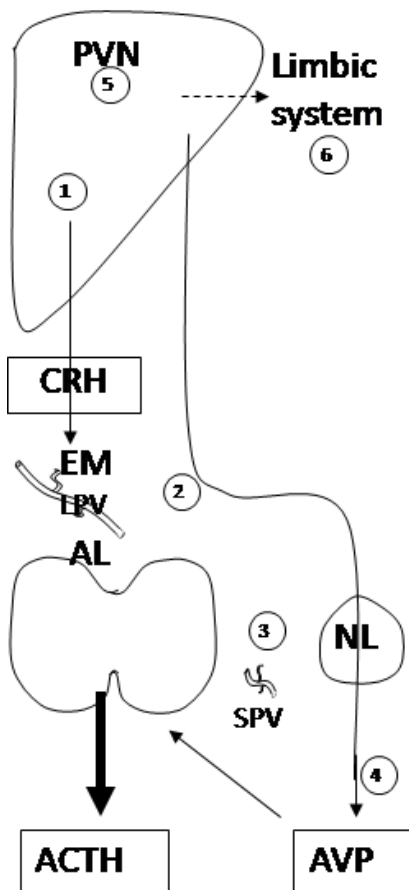
Meg kell jegyeznünk, hogy a V1a receptorokon keresztül megvalósuló érösszehúzó hatás mellett a V2 receptorok ingerlése vazodilatációt is képes létrehozni [192].

A cirkadián ritmus szabályozásában alapvető jelentőségű. Az első hormon, amit az endogén órának is tartott SCN-ben nagy mennyiségben azonosítottak az AVP volt [203-205].

2.4.1.2. A vazopresszin hatása stresszben

Az AVP ugyan önmagában meglehetősen gyenge ACTH szekretagóg, és hatása viszonylag rövid ideig tart [206], ugyanakkor a CRH ACTH elválasztást fokozó hatását jelentősen növeli nemcsak patkányokban [207], hanem emberben is [206]. Ezt *in vivo* és *in vitro* kísérletek is bizonyítják [208, 209]. Míg a CRH az ACTH raktárak gyors ürülését és a POMC génjének átíródását is fokozza, addig az AVP önmagában a POMC átíródására nincs hatással. Egyes fajokban azonban (például birkában) az AVP tekinthető az ACTH elválasztás fő szabályozójának [210].

Kiemelkedő jelentősége van a stresszfolyamatok szabályozása szempontjából annak, hogy a magnocelluláris neuronokon kívül a parvocelluláris neuronokban is kimutatható az AVP jelenléte (13. ábra, 1-es). Nyugalmi körülmények között emberben a parvocelluláris neuronok AVP termelése rendkívül alacsony, de a patkányoknál a CRH termelő sejtek mintegy fele AVP-t **koexpresszál**. Elhelyezkedésük is sajátos a magon belül. A CRH+/AVP+ sejteket laterálisan és dorzálisan találhatunk, míg a CRH+/AVP- sejtek ventrálisan és mediálisan helyezkednek el. Megemlítendő az is, hogy a két neuropeptid egyazon szekréciós granulumban található meg [211]. Az egyes fajok esetében a kolokalizáció mértéke eltérő lehet, illetve egy fajon belül a CRH+/AVP+ sejtek arányát az állat aktuális stressz állapota és kortikoszteron szintje dinamikusan befolyásolják. Például a CRH+ axon AVP+ is lesz, ha az állat mellékveséjét kiirtják (adrenalectomia, ADX) és ez a folyamat visszafordítható, ha a GC-kat pótoljuk [212]. Akut, illetve krónikus stressz hatására szintén megváltozik a CRH/AVP kolokalizációjának mértéke [213]. Akut stressz esetében gyors CRH és AVP ürülés figyelhető meg az axonterminálisokból a hipofízis portális keringésébe az ME-ZE területén. Krónikus stressz esetében azonban a CRH felszabadulásban nem tapasztalható változás, viszont emelkedik az AVP és az AVP mRNS mennyisége a PVN-ben [214], a



13. ábra A vazopresszin hatása a HHM tengelyre. (Varga és Zelena, 2013, 2. ábra)

CRH/AVP termelés aránya az AVP javára tolódik el. Egyes szerzők szerint a parvocelluláris eredetű AVP kevésbé érzékeny a GC-k gátló hatására, mint a CRH [22, 24]. Vagyis a megemelkedett AVP szint funkciója, hogy a HHM tengely működőképességét a krónikus stressz körülményei között is fenntartsa. Tartósan magas GC szintek mellett is létre kell jönnie az egyed túlélése szempontjából elengedhetetlen hatásoknak [22]. Érdekes megjegyezni, hogy az öregedés során emberben is fokozódik a CRH termelő sejtek AVP kolokalizációja, amit a CRH idegsejtek fokozott aktivitásával hoztak összefüggésbe [215].

A parvocelluláris mellett a magnocelluláris eredetű AVP is képes lehet az ACTH felszabadulás kiváltására. Kimutatták, hogy az ME belső zónájában az AVP axonok varikozitásaiból (Herring testek) hormon szabadul fel [216] (13. ábra, 2-es, hosszú portális erek, long portal vessels, LPV). A portális vérben jelentős mennyiségű AVP van jelen akkor is, amikor a parvocelluláris sejtekben az AVP expresszió nem mutatható ki [217]. Ugyanakkor megemlítendő, hogy a parvocelluláris CRH és AVP választ kiváltó stresszorok nincsenek hatással a magnocelluláris AVP sejtekre, az ADX-es állatok esetében a hiányzó negatív GC feedback a magnocelluláris sejtek AVP expresszióját nem befolyásolja. Az is elgondolkodtató adat, hogy a GC receptor szám a parvocelluláris sejtekben magas, míg a magnocelluláris sejtek esetében elenyésző [218].

Német kollaborátorunk, Mario Engelmann szerint a magnocelluláris rendszerből származó AVP a NL-ből a rövid portális ereken (short portal vessels, SPV) is eljuthat az AL-ba (13. ábra, 3-as) [25]. Az sem kizárt azonban, hogy a szisztémás keringésbe ürülő AVP a nagyvérkörrel éri el az AL kortikotrop sejtjeit (13. ábra, 4-es). Meg kell azonban említeni, hogy mikrodialízis vizsgálatok eredményei alapján az AVP (de az OT is) nemcsak a sejtek axonterminálisaiból ürül, hanem a sejttestjükből (szóma) és dendritekből is (13. ábra, 5-ös [219]). Az így lokálisan felszabaduló neuropeptid részt vehet az autofeedbackben részben közvetlenül (autoreceptorok ugyanazon a sejten), de áttételesen befolyásolhatja az afferenseket, a vérátáramlást, vagy más, koexpresszáló neuropeptidek szintjét (pl. saját munka: [34]). Erőteljes, elhúzódó stresszorok alkalmazása esetén egy további szintet is feltételezhetünk: a HHM tengely hiperaktivitása a magnocelluláris PVN sejtek sejttestjéből és dendritjeiből hosszantartó AVP felszabadulást okoz (13. ábra, 6-os). Ez az AVP részben kidiffundálhat a PVN-ből és elérhet limbikus területeket, például a szeptumot is, ahol a stresszor „értelmezését” is megváltoztathatja, ezáltal befolyásolhatja az egész stressz-tengely működését.

Az egyes stresszorok vonatkozásában **immunneutralizálás** bizonyította az AVP szabályozó szerepét mozgáskorlátozás (restraint stressz), éter belélegzés és formalin injekció stresszben, a nyugalmi szintekre gyakorolt befolyás nélkül [220, 221]. A **V1b receptor KO** egerekben az egyik törzs esetén csökkentette az alapszinteket [222], míg egy másik esetben nem volt hatással a reggeli és esti nyugalmi ACTH és kortikoszteron szintekre sem [6]. 30 perc mozgáskorlátozás vagy agresszív kontaktus hatására kialakult HHM tengely aktiváció nem különbözött a vad és V1b KO egerekben, míg a hipoglikémia, LPS, FST és alkohol intoxikáció hatására szignifikánsan kisebb emelkedések jöttek létre a KO állatokban [6, 222, 223]. Az akut hatásokkal ellentétben nem találtak különbséget a krónikus mozgáskorlátozás [6], vagy az ismételt LPS injekciók hatására aktiválódott HHM tengely működésében a vad és V1b KO állatok között [223]. V1b receptor **szelektív antagonist** (SSR149415, Sanofi) kb. 50%-kal csökkentette a mozgáskorlátozás hatására megemelkedő ACTH szinteket [224] és gátolta az éter belélegzés hatását. Ugyanakkor az FST hatására aktiválódó HHM tengelyre hatástalan volt [225].

Összességében megállapíthatjuk, hogy munkánk kezdetekor az AVP stresszre gyakorolt hatásáról ellentmondó adatok álltak rendelkezésre [226] és fiziológiás szerepéről nem alakult ki egyöntetű kép.

2.4.2. A vazopresszin szerepe betegségekben

2.4.2.1. Diabetes insipidus

AVP hiányában diabetes insipidus alakul ki. Fő tünetei az erős szomjúságérzet (és így a fokozott ivás: polidipszia) és fokozott vizeletürítés (poliuria), ami könnyen a szervezet dehidratálódásához vezet. Ritka betegség, gyakorisága 3:100 000 [227]. Kiváltó oka szerint két fő változata különíthető el: a *renális* (nefrogén) típus, melynél bár az AVP termelés normális, a nefronok hibás működése miatt jelentkeznek a tünetek, és a gyakoribb *centrális* diabetes insipidus, ami esetén az AVP termelődés szenved valamilyen okból károsodást. Az esetek két harmadában az ok a hipofízis nyél sérülése (fejsérülés, orvosi műhiba, tumor), míg az esetek negyedében örökletes, vagy autoimmun betegség áll a háttérben. Ritkábban kialakulhat túlzott alkoholizmus, vagy drogfüggőség esetén is, de szülés után megjelenő formája is ismert [228]. Emberekben is előfordul az AVP gén természetes mutációja, mely familiáris neurogén diabetes insipidushoz vezet [229, 230]. Leggyakrabban autoszómális domináns és legalább 60 féle

mutáció ismert [231]. A legtöbb ilyen mutáció (általában a neurofizin régióban) megváltoztatja a preprohormon aminosavjait vagy abnormálisan rövi molekulához vezet. Ez a módosult változat bennragad a sejtben és elpusztítja az AVP termelő neuronokat.

2.4.2.2. Magas vérnyomás

Bár fiziológiásan a vérnyomás fenntartásában korlátozott lehet a szerepe [232], de patológiás állapotokban előtérbe kerülhet (pl. sokk: [233], portális hipertenzió: [234], pulmonális hipertenzió: [235], szívelégtelenséghez társuló hiponatrémia: [236]). Az érösszehúzó hatás következtében az AVP-t igen fontosnak tartják a magasvérnyomás kialakulásában. Ehhez hozzájárulhat, hogy a vese disztális csatornáiban az aldosteron szabályozása alatt álló amilorid érzékeny epiteliális Na^+ -csatorna aktivitását is fokozza [237].

2.4.2.3. Metabolikus szindróma

Ezen mind gyakrabban előforduló komplex betegség magasvérnyomás, elhízás, inzulin rezisztencia, diszlipidémia, fokozott véralvadékonyság, gyulladás hajlam és egyéb járulékos tünetek együtteséből áll és megnöveli mind a cukorbetegség, mind a szív- és érrendszeri megbetegedések kockázatát.

Az AVP számos szerepe (érösszehúzó hatás, vérlemezke aggregáció, glikogenolízis serkentése a májból, lipidanyagcsere hatások, HHM tengely stimuláció, inzulin és glukagon szekréció a hasnyálmirigyből) révén a szindróma sok tünetének kialakításában résztvehet. Valóban, az AVP-vel együtt ürülő copeptinnek a szintje jól korrelált a metabolikus szindróma megjelenésével [238]. Egy követéses vizsgálatban a nyugalmi copeptin szint hosszútávon előre jelezte a hasi elhízás kialakulását, és a cukorbetegség megjelenését [239].

2.4.2.4. Csontrendszer

A szervezetünk nátrium készletének mintegy harmada a csontokban tárolódik. Különböző okokból létrejött hiponatrémia stimulálja a csontlebontást (oszteoklasztokat). Éppen ezért még az enyhe esetekben is a hiponatrémia számos patológiás elváltozáshoz vezet a csontrendszerben (pl. testtartás instabilitás, esések, törések) [240]. A hiponatrémiás esetek mintegy 50%-ért pedig a nem megfelelő, fokozott AVP elválasztás (syndrom of inappropriate ADH secretion, SIADH) felelős [197]. Az AVP tehát indirekt módon, a hiponatrémia révén is vezethet a csontképzés zavaraihoz, de emellett jelentős a direkt csontokra gyakorolt hatása is [241].

2.4.2.5. Stresszel kapcsolatos betegségek

Az AVP a stressz-tengely egyik központi szabályozójaként a stresszel kapcsolatos betegségekben is szerepet játszhat [242].

2.4.2.5.1. Gyomorfekély (ulcus)

A felső gasztrointesztinális traktus épsége a természetesen jelen lévő védő (pl. mukusz, prosztaglandinok) és károsító (pl. a gyomorsav) faktorok finom egyensúlyától függ (részletesebb leírást lásd: [243, 244]). A gyomorfekély élettartam prevalenciája kb. 10%, míg a felnőtt lakosság mintegy 1%-nak aktív fekélye van. Bár napjainkban a probléma a *Helicobacter pylori* felfedezése után megoldottnak tűnik, de számos esetben a kóroki tényezőt nem a bélrendszerben, hanem a szervezet egészében, például súlyos stresszorokban kell keresnünk. Posztoperatíván és kritikusan beteg páciensekben gyakran fejlődik ki úgynevezett stresszfekély, ami elég gyakori az intenzív osztályokon.

Az AVP stresszszabályozó szerepéből kiindulva azt gondolhatjuk, hogy elősegíti a gyomorfekély kialakulását. Valóban, László Ferenc és munkatársai számos kísérletben alátámasztották ezt a szerepet nemcsak AVP-hiányos Brattleboro állatokban, hanem V1 antagonisták alkalmazásával számos ulcerogén stimulus esetén (pl. etanol, nem szteroid gyulladáscsökkentő (nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) indometacin), rezerpin, hideg mozgáskorlátozás, endotoxin sokk) [245, 246]. Bár ők relatíve fiatal (200-220g-os) nőstény állatokat használtak, de eredményeiket egy Japán csoport is alátámasztotta egy szájon át adható, nem-peptid V1 antagonistá alkalmazásával [247] és a magyar diabetes insipidusos (azaz AVP-hiányos) páciensek adatbázisában keresve ezen betegekben is a gyomor-bél rendszeri fekélyek alacsonyabb előfordulási gyakoriságát állapították meg [248]. Habár további humán adat nem áll rendelkezésünkre és eddig a V1 antagonisták se kerültek klinikai alkalmazásra ebben a kórképben.

Ezzel ellentétben számos további tanulmány az AVP gyomorfekélyt védő szerepéről számolt be. NL kivonat és később maga az AVP is kivédte a hisztamin adást követő gyomorfekély képződést [249, 250]. Hosszas táplálékmevönás hatására is csak az AVP-hiányos állatokban alakultak ki fekélyek [251], amit perifériás AVP adása kivédett [252]. Ez az AVP által szabályozott mikrocirkuláció szerepére utal. Ennek ellenmond egy másik japán csoport kutatása, akik szintén az AVP gasztroprotektív szerepét támasztották alá nemcsak az AVP-hiányos

Brattleboro patkányokban, hanem AVP és V1 antagonisták adását követően, de a farmakológiai kezelés hatása csak centrális (intracerebroventrikuláris (icv)) adást követően jelentkezett, perifériás kezelés esetén nem [253]. A centrális AVP védő hatását egy török csoport megerősítette 300-350g-os Sprague-Dawley nőstényeken [254].

Összességében tehát megállapíthatjuk, hogy az AVP szerepe a gyomorfekély kialakulásában kérdéses, és egyáltalán nem vizsgálták a szerepét a fekély gyógyulására. Az ellentmondó eredmények háttérében - többek között - korfüggő változások állhatnak [255].

2.4.2.5.2. Pszichiátriai megbetegedések

2.4.2.5.2.1. Szorongás, depresszió

Az emelt keresztpalló teszt (elevated plus maze, EPM) során mutatott viselkedés alapján tenyésztett LAB (low anxiety, kevésbé szorongó) és HAB (high anxiety, erősen szorongó) patkányok esetén a HAB állatok szorongás- és depresszió-szerű viselkedése V1a receptor antagonistá alkalmazásával csökkenthető volt [256]. Továbbá kvantitatív PCR vizsgálatok igazolták, hogy HAB patkányokban az AVP gén túltermelődése figyelhető meg [257], míg a LAB állatok esetében az AVP gén promoterében megjelenő kieséses pontmutáció eredményezi a csökkent AVP expressziót [258]. V1a KO egerek esetén is csökkent szorongás figyelhető meg [259, 260], míg a laterális szeptum területén a V1a receptor túltermelése fokozott szorongást eredményez [261]. A laterális szeptumba adott V1a mRNS antiszensz oligonukleotid [262] és V1a antagonistá [263] a szorongás- és depresszió-szerű tüneteket is csökkentik [264]. Tehát a szorongást érintő fenotípusos különbségekért részben az eltérő AVP termelés lehet felelős.

A HHM tengely hiperaktív működése közrejátszhat az unipoláris depresszió kialakulásában [191, 192]. Ezt az elképzelést erősíti, hogy a kórállapot gyakran alkalmazott preklinikai modellje különféle enyhe stresszorok hosszú időn keresztül történő ismétlése (CMS). A depresszó emberekben gyakran társul megemelkedett AVP plazma-szintekkel [265-267]. Unipoláris depressziónál az AVP-t expresszáló sejtek száma is több a PVN-ben [268, 269], megemelkedett AVP mRNS szintek mérhetők [270] és az AL is fokozott AVP érzékenységet mutat. Az unipoláris depresszió súlyosabb eseteinél, öngyilkossággal próbálkozó személyeknél a plazma AVP szintek korrelálnak a kortizol szintekkel [265, 271]. A V1b receptor egyik egypontos-nukleotid polimorfizmusa védő hatásának bizonyult a betegséggel szemben [272]. Ezen eredmények alapján kezdett el a Sanofi gyógyszergyár nem peptid V1b receptor

antagonistát fejleszteni, mely szájon át alkalmazva is átjut a vér-agy gáton és képes KPI hatások kifejtésére [273]. Ez a vegyület (SSR149415) preklinikai vizsgálatok során felnőtt állatoknak egyszer adva is csökkentette a HHM tengely aktivációt [274] és valóban hatékonynak mutatkozott a depresszió tesztelésére széles körben alkalmazott magatartási tesztek során [275, 276]. Bár a depresszió gyakoribb nőkben [277], a bemutatott eredmények jó rész mégis hím állatokból származtak.

2.4.2.5.2.2. Patológiás agresszió

Az agresszió praktikusán az összes élőlénynél előfordul és a túlélés záloga. A patológiás formái azonban veszélyeztethetik az emberi társadalmat. Állatmodellek segíthetnek a kezelési stratégiák kidolgozásában. Munkacsoportunk kidolgozott két (kontrollált [278] és impulzív [279]) patológiás agresszió modellt is. Mindkét modell szoros összefüggést mutat a stresszel, habár a pontos mechanizmus még nem tisztázott.

Az AVP agresszióhoz való kapcsolatát először Ferris és Potegal [280, 281] vetették fel. Kimutatták, hogy hörcsög első hipotalamuszában az AVP receptorok blokádja csökkenti az agressziót (összefoglaló lásd: [282]). További vizsgálatok megerősítették ezt az összefüggést. Agresszív interakció hatására számos agyterület AVP elválasztása fokozódik [283-289], ami pozitívan befolyásolja az agresszív magatartás megjelenését számos paradigmában és fajban (anyai agresszió: [290, 291]; rezidens-betolakodó teszt: [292, 293]; ragadozóval szembeni védekezés: [294]; játékos harc (play-fighting): [295]). A V1a és V1b receptorok gátlása hasonlóan hat mind az anyai, mind a hím agresszióra [280, 290, 296, 297], míg néhány agyterület V1a receptor kifejeződése pozitívan korrelál az agresszivitással [286, 298]. Az AVP az emberi agressziót is hasonlóképp befolyásolja [299, 300]. Azaz összességében úgy tűnik, hogy az AVP az agresszió pozitív modulátora. Azonban ez az összefüggés nem ennyire egyértelmű. Először is az AVP hatása agyterületenként változó lehet. Például a laterális szeptum AVP elválasztása serkenti, míg a BNST AVP elválasztása gátolja az agresszív viselkedés megjelenését [288, 301]. Másodsorban az AVP szerepe erősen függ attól is, hogy milyen fajta agresszióval állunk szemben. Például hörcsögben a pubertás kor alatt sorozatos vereségekkel fokozott agresszió az első hipotalamusz csökkent AVP tartalmával jár [302], annak ellenére, hogy felnőttben ugyanezen agyterületen az AVP szint fokozódását hozták összefüggésbe az agresszív viselkedés gyakoribb előfordulásával [280].

Az agresszióval szoros összefüggést mutat az impulzivitás mind állatokban, mind emberben, mely a motiváció jó jelzője [293, 303]. Általánosságban az impulzivitás a környezet ingereire adott túlzó, sokszor inadekvát választ (döntési impulzivitás, choice impulsivity) és az ezen válaszok gátlásának képtelensége (motoros impulzivitás) [304-306]. Mivel az impulzivitás fontos kognitív karakterrel rendelkezik [307], és az AVP szerepe ismert a tanulási és memória folyamatokban [308, 309], ezért feltételezhetjük, hogy az AVP az impulzív viselkedést is befolyásolja, de ezt még soha nem tesztelték.

2.4.2.5.2.3. Egyéb pszichiátriai betegségek

A szorongásos betegségek és az unipoláris depresszió tünetei a PTSD tüneteivel is jelentős átfedést mutatnak, valamint a HHM tengely működése is hasonlóan változik bennük: a GC visszacsatolás gátlása figyelhető meg [310]. Újabb kutatások eredményei szerint a PTSD-ben szenvedő veteránok szignifikánsan magasabb plazma AVP szintekkel rendelkeznek, mint a PTSD-ben nem szenvedő veteránok és a háborús traumát át nem élő kontrollok [311].

Kényszerbetegségek esetén is emelkedett AVP szinteket figyeltek meg mind a vérplazmában, mind az agy-gerincvelői folyadékban [312].

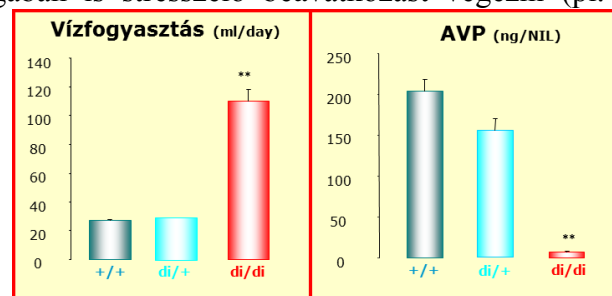
Skizofrén betegek esetében az egészséges kontrollokhoz viszonyítva alacsonyabb AVP szintek mérhetők [313], és a proAVP előmolekulából szintetizálódó neurofizin felszabadulása is kisebb [314]. Skizofrén páciensekben diabetes insipidus is gyakrabban alakul ki, akár a betegek negyedénél is diagnosztizálható [315]. Csökkent AVP termelés antipszichotikum kezelés alatt álló betegeknél is megfigyelhető [316], és az ozmolalitás változásra válaszként adott AVP szekréciójuk is alacsonyabb, mint az egészséges csoportban [317]. Posztmortem vizsgálatok eredményei alapján a skizofrén betegek temporális agykérgében alacsony AVP szintek mérhetők [318]. A fenti eredményekre alapozva skizofrén betegeket AVP kezelésnek vetettek alá, ami csökkentette a pozitív tünetek (pszichotikus állapotok, hallucinációk) gyakoriságát [319]. Az intramuszkulárisan 20 napon keresztül adott AVP javította a memória funkciókat, és egyéb negatív tüneteket (szociális visszahúzódás) is csökkentett [320].

2.4.3. Vazopresszin hiányos Brattleboro patkányok

2.4.3.1. A Brattleboro törzs eredete

A Brattleboro patkánytörzs több, mint 50 éve egy véletlen autoszomális recesszív mutáció révén alakult ki a Long Evans törzsből Nyugat-Brattleboro-ban [321, 322]. Az AVP gén neurofizin régiójában (11. ábra) a $-G_{326}$ -os pozícióban bekövetkező deléciónak miatt elcsúszzik a leolvasási keret [323], a neurofizin 2 és a C-terminális glikoprotein közötti hasítási hely eltűnik, és egy polilizin farok is kapcsolódik a prekursor molekula végére. Ilyen változások mellett a prepromolekula nem képes kijutni az endoplazmatikus retikulumból, az AVP nem vágódik ki, és a végeredmény a fiziológiásan aktív AVP hiánya [324]. Meg kell jegyeznünk azonban, hogy a perifériás szervekben az AVP más úton termelődik, így a Brattleboro állatok sajátosan csak centrális, agyi AVP hiányban szenvednek, azaz nem teljes KO állatok [219]. A vérükből azonban hiányzik az AVP (ez a magnocelluláris, neuroszekréción hipotalamuszsejtekben termelődik), így a fokozott vízfogyasztás (diabetes insipidus) esetükben is megjelenik. Ez alapján genotípusuk egyszerű vízméréssel megállapítható (14. ábra) [325]. Ez a törzs az AVP biológiai folyamatokban, különösen stresszben betöltött szerepének tanulmányozására különösen alkalmas, hiszen az AVP-hiányhoz nem kell akut, önmagában is stresszelő beavatkozást végezni (pl. injekció) [326].

A Brattleboro patkányokon végzett kísérletek eredeti kontrolljai a Long Evans törzs egyedei voltak, viszont az eltelt több mint 50 év során a két törzs elválása miatt az AVP termeléstől független élettani-viselkedésbeli különbségek is megjelenhettek közöttük, melyek



14. ábra Hím Brattleboro állatok vízfogyasztása és hipofízisük hátsó lebenyének vazopresszin tartalma (saját ábra)

megnehezítik az ezen összehasonlításból származó eredmények helyes interpretációját. Bár AVP termelés szempontjából az AVP-hiányos homozigóta recesszív állatok (di/di) legmegfelelőbb kontrollja a homozigóta domináns +/+ genotípus, a gyakorlatban elterjedt a mutációt egyetlen recesszív allél formájában hordozó heterozigóta (di/+) állatok kontrollként való használata is. Ugyan utóbbiak AVP szintje kicsit alacsonyabb, mint a homozigóta domináns egyedeké (14. ábra), de ez is megfelelő só- és vízháztartást biztosít, és más fenotípusos eltérések nem figyelhetők meg a +/+ és di/+ genotípusok között. Előnyük, hogy megfelelő tenyésztés mellett ugyanazon alomból származnak, mint az AVP-hiányos állatok, így egyéb genetikai eltérések és eltérő anyai hatások nem befolyásolják az eredményeket [327]. Korábbi kísérleteink azt mutatták, hogy a normális AVP termelésű heterozigóta, és az AVP-hiányos nőstények anyai viselkedése,

utódgondozása jelentősen eltér egymástól [277], ami hatással lehet az utódok felnőttkori viselkedésére is [328]. Az AVP-hiányos anyák csökkent utódgondozásából adódó eltérések kiszűrése érdekében a kísérletek során használt AVP-hiányos Brattleboro patkányok heterozigóta anyja és homozigóta recesszív apa párosztatásából származnak, így az utódok 50%-a heterozigóta (di/+), 50%-a AVP-hiányos homozigóta (di/di). A felnőtt állatok genotípusának elkülönítése az állatok 5-6 hetes korában történik vízfogyasztás méréssel, ami a di/di állatoknál jelentősen nagyobb [325]. Elválasztás előtti korban lévő állatoknál a vízfogyasztás mérésére nincs lehetőség, náluk a hipofízis AVP szintjének RIA mérése informatív.

A világon egyedülálló módon laboratóriumunkban hozzáférhetők +/+ állatok is, melyeket megfelelő tenyésztéssel alakítottunk ki. Két heterozigóta állatot összepárosztatva az AVP-hiányos utódok vízméréssel elkülöníthetők, míg a fennmaradó ismeretlen (+/+ vagy di/+ genotípusú) egyedeket di/di állatokkal keresztezve, ha a kellően nagyszámú utód közt nincs egy di/di genotípusú állat se, akkor a vizsgált szülő +/+ genotípusú. A +/+ párokat külön tenésztvonalként tartjuk fenn, de minden tenéspár frissítésekor visszakeresztezzük a heterozigóta vonallal. Néhány, külön jelzett kísérletben ezeket az állatokat használtuk kontrollként.

2.4.3.2. A stressz-tengely működése Brattleboro patkányokban

Természetes mutációval létrejött Brattleboro törzzsel kapcsolatban is eltérő eredmények láttak napvilágot [329, 330]. Általában normális nyugalmi ACTH és kortikoszteron szinteket tudtak kimutatni ezen törzs AVP-hiányos egyedeiben [191], bár néhány szerző alacsonyabb stressz-hormon szintekről számolt be [331-333]. Hasonlóan különbözött a stresszre adott válaszuk is (normális: [326, 334-336]; csökkent válasz: [253, 337]). Meg kell jegyeznünk, hogy számos kísérletben nem megfelelő kontrollokat alkalmaztak (pl. a Long Evans törzs [327]), ami részben magyarázhatja az eltéréseket, illetve nehezíti teszi a laboratóriumok közötti összehasonlítást.

2.4.3.2.1. ACTH és kortikoszteron disszociáció

A Brattleboro patkányok stressz-tengelyének vizsgálata során több stresszor esetén is azt tapasztaltuk, hogy a kortikoszteron szintek nem minden esetben követik az ACTH szintek változásait [338], ami perinatális korban a legszembetűnőbb (lásd később).

Mivel az ACTH elválasztást a kortikoszteron növekedés némi késéssel követi, az esetek egy részénél a disszociáció hátterében csupán a mintavételezés időzítésének helytelen

megválasztása állhat [339]. A HHM tengely különféle hormonjai emberekben is időbeli eltolódással mutatnak csúcsértékeket [340]. Ennek kizárása a különböző stresszorok esetén jelentkező hormon-szint változásokat nyomon követő időgörbe felállítására is sort kerítettünk felnőtt [341], és perinatális korú [342] állatoknál is.

Az ACTH-kortikoszteron disszociáció témájában további mérés technikai probléma lehet, hogy az irodalomban általában alkalmazott módszerek az összes GC szinteket mérik a hatékony szabad szintek helyett és a CBG szintek eltérései jelentős összGC szint különbségekhez vezethetnek a szabad szintek eltérései nélkül. Ezért összehasonlítottuk az AVP-hiányos és kontroll állatok CBG szintjeit is.

Elképzeltető, hogy a di/di állatokban tapasztalható minimális ACTH szint emelkedés a mellékvese-kéreg fokozott ACTH érzékenysége következtében ugyanolyan kortikoszteron választ képest kiváltani, mint kontroll, sokkal erőteljesebb ACTH szekréciót mutató társaikban. Ennek tanulmányozására *in vitro* mellékvese szekréciós vizsgálatokat végeztünk.

Ha kizárjuk a mérési módszerek következtében tapasztalható ACTH-kortikoszteron disszociációt, akkor fel kell tételeznünk egy ACTH független GC szekréció meglétét [343]. A GC elválasztás serkentésére legkézenfekvőbbnek a stressz során szintén aktiválódó mellékvese-velőből származó katekolaminok tűnnek (SAS) [55, 57]. Valóban, valamennyi katekolamin receptor megtalálható a mellékvese-kéreg kortikoszteron termelő sejtjein [344], de talán legjelentősebbnek a β receptorok tűnnek [57, 345, 346]. Mivel a 10 napos AVP-hiányos Brattleboro patkányban praktikusán ACTH elválasztás emelkedése nélkül valósul meg a stresszorok hatására létrejövő kortikoszteron szint emelkedés [342], a para-adenohipofízis neuroendokrin szabályozás *in vivo* vizsgálatára nagyon jó modell-állatként szolgál (vonatkozó irodalmi adatok kizárólag *in vitro* kísérleteken alapulnak). Ha az ezen állatokban alkalmazott antagonisták (pl. β blokkoló propranolol) kivédi a stresszor okozta kortikoszteron emelkedést, akkor a tanulmányozott receptor részt vesz a kortikoszteron szekréció endogén fokozásában.

A GC-k és MC-k nemcsak szerkezetileg nagyon hasonlóak és versengenek a kötőfehérjékért, hanem hatásaikat is ugyanazonokon a receptorokon keresztül képesek kifejteni. Felmerült ezért, hogy a GC-k és MC-k együtt követhetik az ACTH szinteket. Ennek igazolására az ACTH és kortikoszteron szintek mellett egy stressz-kísérletben az aldoszteron szintjét is megmértük.

2.4.3.3. A Brattleboro patkányok általános jellemzői (etogram)

Az állatok pszichés állapotának megítélésére széles körben elterjedt magatartás vizsgálatok szolgálnak. Majdnem minden viselkedés alapját valamilyen hely vagy helyzetváltoztatás képezi, ezért a tesztek megítélésénél alapvető fontosságú az épp motoros rendszer (2. táblázat). A fokozott vizeletürítés következtében nemcsak a vízfogyasztása nő meg a di/di (AVP-hiányos) állatoknak, hanem kisebbek is lesznek. Ennek ellenére semmilyen vizsgált paraméterben (nyílt tér teszt (locomotor activity), függeszkedés dróton (wire suspension), rúdon (stationary beam), forgórúd (rotarod)) nem tapasztaltunk különbségek a motoros működésükben, ami azt jelenti, hogy magatartási tesztekben jól alkalmazhatók.

	<i>n</i>	di/+	di/di
<i>General parameters</i>			
Body weight [g]	11/10	299.4±10.4	246.1±11.9 **
Water intake [ml/day]	11/10	31.4±1.5	190.9±9.9 **
Relative water intake [ml/day/kg]	11/10	105.3±4.4	775.8±20.3 **
Food intake [g/day]	11/10	21.7±0.8	18.3±0.6 **
Relative food intake [g/day/kg]	11/10	73.3±3.6	75.6±3.5
<i>Locomotor activity</i>			
Horizontal [number of squares]	32/24	88±3.5	95.3±4.3
Vertical [number of rears]	32/24	55.6±1.8	50.5±2.8
<i>Falling latencies</i>			
Wire suspension [s]	21/14	13.6±3.0	14.9±3.6
Relative wire suspension [s/kg]	21/14	40.3±9.5	51.0±11.6
Stationary beam [s]	14/11	34.7±4.0	30.7±3.0
Relative stationary beam [s/kg]	14/11	110.6±13.0	119.4±12.5
Rotarod [s]	7/6	35.5±6.0	37.4±6.77
Relative rotarod [s/kg]	7/6	14.4±2.8	20.4±4.5

** $p < 0.01$ vs. di/+.

2. táblázat A Brattleboro állatok általános jellemzése (Mlynarik és mtsai, 2007, 1. Táblázat – saját adat)

3. Célkitűzések

Átfogóbb képet kaphatunk, ha egyetlen modell esetén vizsgáljuk a különféle, intenzitásukban, modalitásukban eltérő stresszorok hatását, illetve a HHM tengely változásait összehasonlítjuk a betegségtünetek kialakulásával. Kísérleteinkhez az intézetünkben tartott és tenyésztett Brattleboro patkányok szolgáltak állatmodellként. Az állattörzset azért szereztük be, hogy bizonyítsuk az AVP fontos szabályozó szerepét krónikus stresszben. Mivel itt nem találtunk nagy eltéréseket, figyelmünk az akut stressz felé fordult. Az itt tapasztalt változások enyhe volta az élethosszig tartó AVP-hiány következménye lehet. Ezek kiküszöbölése miatt kezdtük el tanulmányozni a perinatális korú állatokat.

Az AVP szerepét a következő folyamatokban vizsgáltuk:

3.1. A HHM tengely működése

Krónikus stressz

1. Két hétig tartó krónikus stresszmodellek összehasonlítása
2. Az anya HHM tengelyének vizsgálata

Akut stressz

1. Különbféle akut stresszorok hatása hím patkányok ACTH és kortikoszteron elválasztására
2. A szomato-dendritikus AVP elválasztás szerepe (mikrodialízis vizsgálatok)

Perinatális kor

1. Akut stresszorok hatása az ACTH és kortikoszteron elválasztásra
2. ACTH-kortikoszteron disszociáció (időgörbék, CBG, mellékvese érzékenység,

katekolaminok, mineralokortikoidok)

3.2. Patológia

Gyomorfekély - korfüggő hatások

Pszichiátriai eltérések

1. Szorongás- és depresszió-szerű tünetek hímekben
2. Perifériás AVP szerepe a szorongás- és depresszió-szerű tünetek megjelenésében
3. Impulzivitás és agresszivitás nemi különbségei (hímek és anyák)

4. Módszerek

4.1. Kísérleti állatok

Kísérleteinkhez saját tenyészetből (MTA Kísérleti Orvostudományi Intézet, a kolónia eredete: Harlan, Indianapolis, USA) származó hím és nőtény Brattleboro patkányokat (15. ábra) használtunk. Általában felnőtt (7-12 hetes) hím patkányok kerültek vizsgálatra, illetve a perinatális vizsgálatokhoz 10 napos patkányokat használtunk, ha másként nem jelzem.



15. ábra A di/di (kisebb) és $di/+$ (nagyobb) genotípusú állatok közötti méretbeli különbség (saját)

A Brattleboro törzsről és a tenyészetéről bővebben lásd: 2.4.3.1. Az állatok összehasonlítása azonos korban és nem azonos testsúlyú állatok között történt (lásd: 2. Táblázat).

Az anyákkal végzett kísérletekhez a nőtényeket „ellentétes genotípusú” ($+/+$ vagy di/di) hím patkányokkal pároztattunk össze, hogy az utódok között ne legyenek olyanok, amelyek di/di -sek, hiszen az befolyásolhatja az anyák magatartását (lásd 3. táblázat kerettel kiemelt részek). Az átlagosan 21 napig tartó vemhesség után a megszületett utódok számát 6-ra redukáltuk minden alomnál (3 hím és 3 nőtény), hogy elkerüljük az eltérő utódszámból és az utódok neméből eredő anyai magatartás különbségeit [347-350].

Az állatokat standard körülmények között tartottuk (21-23 °C-os hőmérséklet, 50-70% páratartalom, 12 órás világos-sötét ciklusok mellett, fény bekapcsolása 07.00 órakor), patkánytáp (Charles River, Magyarország) és ivóvíz igény szerint állt rendelkezésükre. Az állatok ketrecét normálisan hetente almozzák, viszont a di/di állatok fokozott vizeletürítése miatt ezt heti 3 alkalomra növeltük. Hogy elkerüljük a ketrectársak kezeléséből adódó stresszfaktort, általában egyedileg tartottuk az állatokat.

anya/apa	$+/+$	$di/+$	di/di
$+/+$	$+/+$	$+/+$ $di/+$	$di/+$
$di/+$	$+/+$ $di/+$	$+/+$ $di/+$ di/di	$di/+$ di/di
di/di	$di/+$	$di/+$ di/di	di/di

3. táblázat A patkányok pároztatása. Az első oszlopban az anyák, az első sorban az apák, a táblázat belsejében pedig az utódok lehetséges genotípusa látható. Rózsaszín az általánosan alkalmazott pároztatás, bekeretezve az anyai vizsgálat pároztatása.

Állatházunk működtetését, és ott folyó kísérleteinket az Európai Unió állatkísérletekre vonatkozó 2010. szeptember 22-én hatályba lépett irányelvei szerint (2010/63/EU), a Fővárosi Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás engedélyével és a Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság felügyeletével végezzük. Kísérletek során a statisztikai elemzések helyes elvégzéséhez nélkülözhetetlen minimális állatszámokkal dolgoztunk.

4.2. Mintavétel

4.2.1. Vér és szövetminták nyérése dekapitálással

A feldolgozás során az állatok törzsvérét (kb. 7-10 ml felnőtt és 4-500µl posztnatális) jégen hűtött, K₂-EDTA (250µl illetve 50µl 20 w/v % EDTA) tartalmú csövekbe fogtuk fel, majd centrifugálás után (4°C-on 2500rpm, 30 perc) a plazmát -20°C-on tároltuk hormonmeghatározás céljára (4.4.1.).

A dekapitálás után a koponyát felnyitottuk, az agyakat eltávolítottuk és szárazjégen azonnal fagyasztottuk és szövettani feldolgozásig (4.3.1.) vagy az *in situ* hibridizációig -70°C-on tároltuk (4.4.3.). A hipofíziseket beágyazó médiumban szárazjég segítségével azonnal lefagyasztottuk és az agyakhoz hasonlóan tároltuk. A PCR-hez mindkét oldali hippocampus darabot a kivett agyból egyből kimetszettük és Eppendorf csövekbe lefagyasztottuk (4.4.6.).

4.2.2. Szövetminta nyérése immunhisztokémiai vizsgálatokhoz

Két órával egy stresszor (15 perces FST (4.6.1.2.) vagy éter stressz (4.7.1.2.1.2.)) alkalmazása után az állatokat elaltattuk, majd perfundáltuk. Az anesztéziához (ha másként nincs említve) a további kísérletek során is ketamin (50 mg/kg SelBruHa Állatgyógyászati Kft, Hungary)-xylazine (20 mg/kg Spofa, Prague, Czech Republic)-promethazinum chloratum (0,2 mg/kg, EGIS, Budapest, Hungary) fiziológiás sóoldatos keverékét adtuk ip 2ml/kg mennyiségben. A nem-stresszelt kontroll állatokkal nem történtek egyéb (pl. magatartás) vizsgálatok, hanem a ketrecükből kivéve egyből perfundáltuk őket; az anyákat az ellést követő 15-20. napon (randomizáltan a magatartás vizsgálaton átesett, stresszelt állatokkal).

Az intrakardiális perfúzió célja az agy fixálása volt. Első lépésként két percig az ereket fiziológiás sóoldattal mostuk át (kb. 100ml), majd 300 ml fixáló folyadékot (0°C-os 4%-os paraformaldehid oldat) keringtettünk. Ezután az így fixálódott agyakat eltávolítottuk és a perfúziós oldatban posztfixáltuk 4°C-on egy éjszakán át.

A perfúziót követő nap foszfát puffer oldattal (PBS: 1 liter desztillált vízben 1,56 g NaH_2PO_4 , 30,8 g $\text{NaHPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$, 5 g NaCl és 0,2 g MgCl) a perfundáló folyadékot kiöblítettük az agyából, majd 20%-os cukros PBS oldatba merítettük őket. 2 nap után kivettük az agyakat a folyadékból, felitattuk papírral a felületüket, majd a metszésig (4.4.4.1.) lefagyasztva -70°C -on tároltuk őket.

4.2.3. Krónikus juguláris kanül beültetése vérminták vétele céljából

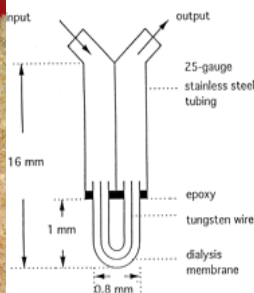
Két nappal a kísérletek kezdete előtt az állatok jobb juguláris vénájába altatásban egy szilikon kanült helyeztünk (medical-grade silicone tubing; ID 0,64mm; OD 1,2 mm Dow Corning; MI; USA). A behelyezés után a kanült az állatok bőre alatt átvezettük a háti-nyaki régióhoz, majd heparinos (a mikrodialízis kísérletnél (4.3.1.) gentamicines, 30.000 IU) fiziológiás sóoldattal feltöltöttük és a kísérlet kezdetéig lezártuk. A kísérlet napján heparinos fiziológiás sóoldattal átmostuk, majd egy hosszabb szilikon cső segítségével egy fecskendőt csatlakoztattunk a vénába vezetett kanülhöz az éber, szabadon mozgó állaton végzett folyamatos vérvétel céljából (0,4 ml vér/minta, levétele után fiziológiás sóoldattal visszapótolva).

4.3. Műtéti eljárások

4.3.1. Mikrodialízis mintavevő beültetése az agyba



16. ábra Mikrodialízis



A mikrodialízis módszere a kis pórusnagyságú membránon való anyagáramlás elvén alapul, melyet a pórusnagysága, a két oldal közötti koncentráció grádiens, a hőmérséklet, és az áramoltatott mikrodialízis folyadék sebessége határozza meg. Abban az esetben, ha az

extracelluláris térben egy anyag koncentrációja nagyobb, mint a dializáló folyadékban, akkor az adott anyag az extracelluláris tér felől a dializáló folyadék felé áramlik. Ha a koncentráció viszonyok fordítottak, akkor az agyáramlás iránya is megfordul [351].

Egy házilag gyártott U-alakú mikrodialízis mintavevő (16. ábra) került beültetésre a PVN-be sztereotaxikus "keret" segítségével [351, 352]. A rögzített, megtisztított koponyára a célterület közelében egy-egy rozsdamentes acél csavart rögzítettünk a falcsontban és a homlokcsontban

fogászati fúróval fúrt lyukakba. A két acélsavar között egy elliptikus lyukat fúrtunk a koponyába, majd a mintavevőt lassan, de folyamatosan a PVN (a sagitális szinusz megkímélése miatt 10°-ban jobbra döntött befogóval, AP: -1,3mm, laterálisan: 1,7mm a középvonaltól és DV: 9,0mm a koponyaacsont felszínétől [353]) vagy az SON (AP:-0,6mm, lat: 1,8mm, DV: 9,6mm) felé engedték le és fényre megkötő fogászati anyag (Vivadent Dual Cement, Schaan, Liechtenstein) segítségével mind a koponyához, mind a csavarokhoz rögzítettük.

Az agyműtéttel egyidőben a jobb vena jugularisba a korábbiakban ismertetett módon kanült helyeztünk vérminták gyűjtése céljából.

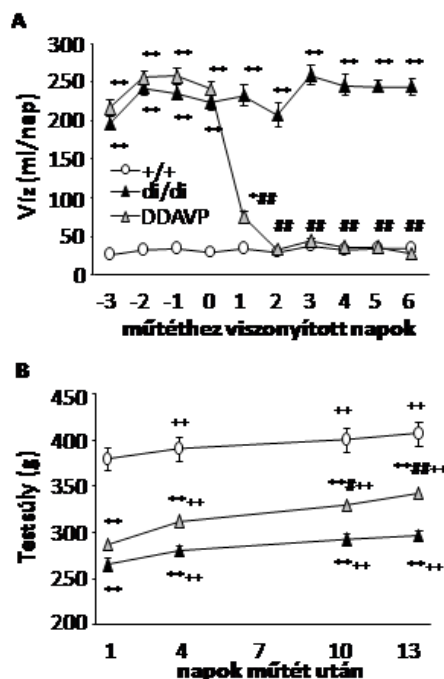
Az állatokat 3 napig hagytuk felépülni egy felül nyitott műanyag dobozban (60×40×50cm), mialatt mind a kísérletező személyhez, mind a kísérleti elrendezéshez (a minta gyűjtéséhez hosszabb csöveket csatlakoztattunk a fején lévő végződésekhöz) szoktattuk őket. A kísérlet reggelén 7.00 órakor csatlakoztattuk a mintavételhez-beadáshoz szükséges csöveket és a kísérlet megkezdése előtt min. 2 órát nyugalomban hagytuk az állatokat.

A műtét sikerességét a kísérlet végén fagyasztott agymetszeteken (kriosztát, Leica CM 3050S, Nussloch, Germany, 25 µm-es frontális metszetek) krezilibolya festést követően ellenőriztük.

4.3.2. Alzett ozmótikus minipumpa beültetése

Az AVP-hiány só-víz háztartásra gyakorolt negatív hatásainak kiküszöbölésére a di/di állatok bőre alá rövid éteres bódításban (kb. 3 perc beavatkozás) ozmótikus minipumpát (Alzet osmotic minipump, 2002, 0,5l/h/14nap) ültettünk, melybe dezmozpresszint (DDAVP, 10ng/h, V2 receptor agonista, Ferring Lieciva, Cseh Köztársaság) helyeztünk fiziológiás sóoldatban feloldva [277, 354]. A kontroll +/+ és di/di állatok álműtéten (bódítás és bőrmetszés) estek át.

Valóban, a di/di állatok vízfogyasztása már a beültetést követő második napra csökkent és a vizsgálati periódus alatt folyamatosan alacsony maradt (17. ábra). Ennek hatására az állatok testsúlya is növekedésnek indult.



17. ábra A DDAVP kezelés hatása a szomatikus paraméterekre A. Vízfogyasztás B. Testsúly változás *p<0,05, **p<0,01 di/di és DDAVP vs +/+; ##p<0,01 DDAVP vs di/di; ++p<0,01 vs első mérés

4.4. Mérések

4.4.1. Hormonmérések

A hormonszintek mérése során radioimmunoassay (RIA) módszert használtunk (kivéve: adrenalin, noradrenalin). Az egy kísérletből származó mintákat egy assay-ben mértük meg két parallel mérés átlagaként.

4.4.1.1. Kortikoszteron

A kortikoszteronszintek mérése során 10 µl plazmából határoztuk meg a hormonszinteket. A specifikus ellenanyagot nyúlban termeltettük kortikoszteron-3-karboximetiloxim-bovin serum albumin konjugát ellen. I^{125} jelölt karboximetiloxim-tirozin metilésztert használtunk nyomjelzőként (tracer). A plazma CBG reaktivitását alacsony pH alkalmazásával zártuk ki. A kortikoszteron mérés szenzitivitása 1 pmol, a mérésen belüli szórás 7,5 % volt.

4.4.1.2. ACTH

Az ACTH méréshez szükséges specifikus ellenanyagokat (nyúlban termeltetett h-ACTH₁₋₃₉ ellen) intézetünkben fejlesztettük ki [355]. Az ellenanyag magas specificitással rendelkezik az ACTH-ra. α-MSH-val való keresztreaktivitása 0,2%, ugyanakkor nem mutat szignifikáns keresztreakciót az γ-MSH, ACTH₁₁₋₂₄, ACTH₂₅₋₃₉, ACTH₁₋₁₄, ACTH₁₋₁₉ peptidekkel. A méréshez 50µl mintát használtunk. A mérésen belüli szórás 5,8% volt.

4.4.1.3. Oxitocin

Az OT szinteket Münchenben mérték specifikus RIA-val. A plazma OT tartalmat 100µl minta extrahálását követően, a mikrodialízis mintákat liofilizálást követően határozták meg. A méréshatár 0,1 pg/minta, más peptidekkel való keresztreakció <0,7% volt [323].

4.4.1.4. Vazopresszin

A kispatkányok genotipizálása során az AVP tartalmat a teljes hipofízisekből határoztuk meg. A dekapitálás után a hipofíziseket eltávolítottuk, majd 100µl 0,1N sósavban durván homogenizáltuk. Feldolgozásig -20°C-on tároltuk. Felolvasztás után 5 percig forraltuk a mintákat, majd ultrahangos homogenizálást végeztünk. 100-szoros hígítás után mértük meg a homogenátumok AVP tartalmát.

Az AVP hormonmérések esetében a nyúlból származó anti-AVP antitestet Dr. Vecsernyés Miklós (Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar) ajánlotta fel számunkra. A mérésen belüli szórás 10,7% volt.

4.4.1.5. Adrenalin, Noradrenalin

A plazma adrenalin és noradrenalin szintjét nemzetközi kollaborációban Magdeburgban (Németország) enzim immunoassay módszerrel mérték kereskedelmi forgalomban kapható kit segítségével (ICN Pharmaceuticals, NY, USA).

4.4.1.6. Aldoszteron

A plazma aldoszteron szintjét nemzetközi kollaborációban Pozsonyban (Institute of Experimental Endocrinology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia) mérték meg RIA Aldosterone kit (Immunotech, Franciaország) segítségével [356].

4.4.2. Kortikoszteron kötő fehérje (CBG)

A CBG kötő kapacitást Shanks és Meaney [357] Sephadex-LH-20-on alapuló módszerének módosított változatával mértük [338]. Az endogén kortikoszteron eltávolításához 50µl szérumot 1ml dextran charcoal-al inkubáltuk 30 percig jégen (500 mg dextran T-70 és 5 g Norit A oldva 100 ml TEGM pufferben (30mM TRIS.HCl, 1mM Na-ETDA, 10mM Na-molibdát, 10% (v/v) glicerin, pH=7,4)), majd centrifugáltuk (300g, 30 perc). A *teljes kötő kapacitás* meghatározásához 200µl felülúszót egy éjszakán át 4°C-on inkubáltunk 200µl ³H-kortikoszteronnal (2,78 TBq/mmol, Amersham, Birmingham, UK; 3nMTEGM-ben oldva). A *nem specifikus kötő kapacitás* meghatározásához 200µl felülúszót egy éjszakán át 4°C-on inkubáltunk ³H-kortikoszteron és „hideg” kortikoszteron elegyével (3nM ³H-kortikoszteron és 16mM „hideg” kortikoszteron TEGM-ben). A Sephadex LH-20-at TEGM pufferben (20% v/v) duzzasztottuk egy éjszakán át 4°C-on. Az 1 ml-es pipettahegyekből oszlopokat építettünk 1250µl szuszpenzió segítségével, amit 500µl TEGM-el, majd 100µl TEGMD-el (20 ml TEGM, 3mg DTT (DL-Dithiothreitol, Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA); aktivációs lépés) mostunk. Ezt követően 100µl inkubált felülúszót töltöttünk az oszlopra. Az oszlopot 100µl TEGMD-el eluáltuk és 25 perc után a megkötetlen radioaktivitást 500 µl TEGMD-el való eluálással távolítottuk el. Mind a specifikus, mind a nem specifikus kötő kapacitást 3 párhuzamos mikrooszlopon mértük minden egyes mintára. Az eluátumokat a mintafeltöltési lépés során gyűjtöttük, a térfogatot

kiegészítettük 1ml-re, majd 50 µl-es aliquotokat helyeztünk a folyadék szcintilláló fiolákba és lemértük a radioaktivitást (Wallace 1409 Liquid Scintillation Counter, GMI, Inc., Ramsey, MN, USA). A specifikus és nem-specifikus kötés radioaktivitási adatai nM-ban vannak kifejezve.

4.4.3. In situ hibridizáció

4.4.3.1. Szövetelőkészítés

A szövetdarabokat kriosztátban -17°C-on metszettük. Az agyak koronális metszetei közül minden hatodik 16µm-es metszetet, a hipofízisek esetében a szerv legnagyobb keresztmetszetű részéből 4 párhuzamos sorozatban, lemezenként 6db 16µm-es metszetet szilánózott tárgylemezre vettünk fel. A hibridizációig a lemezeket -70°C-on tároltuk.

4.4.3.2. Hibridizáció

A lemezeket 4%-os paraformaldehid oldattal posztfixáltuk 60 percig, majd 2x5 percig steril kálium-foszfát pufferben (KPBS) mostuk. Mosás után egy éjszakán át vákuum-exszikkátorban szárítottuk. Szárítás után proteináz-K-val emésztettük (1 µg/ml 50 mM Tris-ben, pH=8, és 5 mM EDTA), acetiláltuk (0,25% ecet-anhidrid 0,1 M trietanolaminban, pH=8), majd felszálló alkoholsorban dehidráltuk a szöveteket (50%-70%-96%-abszolút alkohol). Száradás után a ³⁵S-UTP-val jelölt ribopróba (hibridizációs oldat: 10⁷-10⁹dpm/ml; 50% formamid, 0,3M-os NaCl, 10mM TRIS, 2mM EDTA, 1x Denhardt oldat, 10% dextrán szulfát, 0,5 mg/ml élesztő tRNS, pH=8) 100 µl-ét a szövetekre pipettáztuk, majd a lemezeket (vigyázva arra, hogy a fedőlemez alá buborékok ne kerüljenek) lefedtük. A lemezekhez a fedőlemezt DePeX segítségével rögzítettük, hogy a kiszáradásukat elkerüljük (nedves kamra létrehozása). A hibridizáció 58°C-on 12-16 órán keresztül zajlott. A hibridizáció után a metszeteket 4x SSC-ben (saline-sodium citrate puffer) áztattuk mindaddig, amíg a fedőlemezek maguktól leváltak a tárgylemezről (1x SSC: 0,15M NaCl és 15mM trinátrium-citrát, pH=7). A nem hibridizálódott egyszálú ribonukleinsavakat ribonukleáz A-val emésztettük (20 mg/ml; TRIS-EDTA pufferben 0,5M NaCl). Fokozatosan csökkenő sókoncentrációjú mosások után (2x, 1x, 0,5x SSC) 65°C-on 0,1x SSC-ben 30 perces inkubáció következett.

A **POMC mRNS** szinteket a POMC gén exonszekvenciájával komplementer [³⁵S]UTP-val jelzett ribopróbával vizsgáltuk (az 1,2kb templátot magába foglaló plazmid Dr. J Eberwine ajándéka volt (University of Pennsylvania, USA)). A hibridizációs eljárás után az exponálás „imaging plate” segítségével történt 72 órán keresztül. A „plate”-ek leolvasása fluoreszcens kép

analizálóval történt (FLA 000, Fujifilm, a leolvasás felbontása: 50 μm). A kapott radiogramokat az internetről szabadon letölthető Image J szoftverrel (NIH, Bethesda, MA, USA) értékeltük ki. A vizsgált régió területét körberajzoltuk, majd az átlagos szürkeséget a háttér értékével (egy szomszédos hipotalamikus terület átlagos szürkesége) korrigáltuk. A 6 mérés átlaga szolgált az állat jellemzésére.

A **CRH mRNS** mennyiségének meghatározás a [^{35}S]UTP jelölt ribopróba használatával történt. Ez a próba a CRH gén exonszekvenciájával komplementer (a próba Dr D. Richter, University of Hamburg, Germany nagylelkű ajándéka volt). A minták kiértékelése során a POMC mRNS esetében leírt metódust használtuk. A hibridizált metszetek digitalizált képén a szignál átlagos intenzitását határoztuk meg a PVN régióban.

Az **OT mRNS** szint mérése az SON-ben történt. Az agyminták metszésére és hibridizálására Magdeburgban, a kiértékelésre Magyarországon került sor. Az OT-ra specifikus DNS szekvenciát tartalmazó vektor Dr. Evita Mohr ajándéka volt (Institute of Cellular Biochemistry and Clinical Neurobiology, Hamburg-Eppendorf University, Hamburg, Germany). A hibridizált lemezeket Kodak NTB3 autoradiográfiás emulzióba merítettük, az exponálás ideje 3 nap volt. Az előhívás D-19-es előhívó (Kodak) oldattal történt. A PVN mikroszkópos képét digitalizáltuk (Sony CCD kamera), a feldolgozás ezekről a képekről történt. Az ezüst szemcsék által kibocsátott szignál optikai denzitását minden állat esetében 4-5 lemezen, összesen 50-60 egyedi sejt esetében határoztuk meg a PVN három régiója felett (lásd [323]). A kiértékeléshez az ImageJ szoftver "threshold" funkcióját használtuk, ahol a felső és alsó küszöb közötti fényességű „pixelek” pirossal jelölődnek és területüket a program automatikusan számolja (a nagy sejtsűrűség miatt az egyes sejtek az SON területén nem elkülöníthetők, így a sejtszám nem adható meg).

4.4.4. Immunhisztokémia

4.4.4.1. Immunhisztokémiai jelölés

Az aktiválódott sejtek kimutatására c-Fos immunhisztokémiát végeztük (részben anyaállatokon FST-t követően (4.7.1.1.2.), részben hím állatokon alapállapotban). A c-Fos korai átíródású transzkripciós faktor, melyet széles körben használnak a neuronális aktivitás becslésére [358]. A fixált agyakat (lásd: 4.2.2.) fagyasztó szánkamikrotóm használatával metszettük le

coronalis síkban 30 μ m vastag szeletekre [277]. A metszeteket fagyálló folyadékban -20°C-on tároltuk a szövettani feldolgozásig.

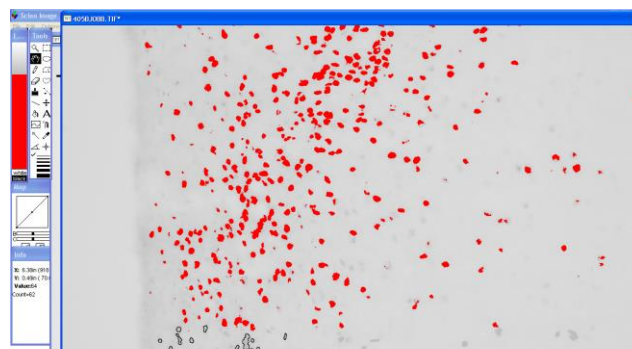
Első lépésként a metszeteket PBS-ben 3 \times 10 percig mostuk, majd az endogén peroxidázok blokkolására 0,2%-os Triton-X-100 és H₂O₂-oldatba helyeztük őket. A metszeteket 3 \times 5 percig PBS-ben mostuk, ezután a nem specifikus fehérjék blokkolására 20 perces 2%-os normál lószérum (Normal Horse Serum, NHS) inkubálást alkalmaztunk. Ezt 3 \times 10 perces PBS mosás követte. A metszeteket ezután 1 éjszakán át primer antitestben, poliklonális nyúl anti-c-Fos oldatban (Santa Cruz Biotechnology, USA, sc-52; 1:5000 hígításban, 4°C-on) inkubáltuk, amit 3 \times 10 perces PBS-mosás követett. A primer antitest kötődés kimutatásához a metszeteket nyúl elleni szekunder antitestet tartalmazó oldatban (1:500) inkubáltuk szobahőmérsékleten 1 órán keresztül, majd 3 \times 10 percig PBS-ben mostuk. Ezt követően a metszeteket Avidin-Biotin-Complexben (ABC, Vectastain; 1:1000 TRIS) inkubáltuk szobahőmérsékleten 1 órán keresztül, amit 3 \times 10 perces PBS és 1 \times 10 perces TRIS mosás követett. Az antigén vizualizálására a szöveteket 10 percig diamino-benzidin (DAB, Sigma-Aldrich Kft., Budapest) oldatban inkubáltuk, amit 4 \times 5 perces TRIS mosás követett. A metszeteket szilános lemezekre húztuk fel, 24 órán át szárítottuk, majd DePeX oldat segítségével fedtük le őket.

A CRH immunhisztokémia kivitelezése egy kollaboráció keretében Leidenben (Hollandia) történt [359] (hím állatok, éter stressz után (4.7.1.2.1.2.)). Egy kriosztátban (Microm, Walldorf, Germany) 25 μ m-es metszeteket készítettünk a koronális síkban, melyeket steril fagyálló oldatban (0,05 M PBS, 30% etilén glikol, 20% glicerol) -20 °C-on tároltunk felhasználásig (a további lépéseket szobahőn végeztük). Az immunfluoreszcens jelöléshez a metszeteket 3 \times 20 percig PBS-ben ráztuk, majd 30 percig 0,5% Triton X-100 tartalmú PBS-ben inkubáltuk. 2 \times 15 perc PBS-ben történt rázás után a metszeteket 30 percig előinkubáltuk PBS-ben oldott 2% normál szamár szérumban (Jackson Immunoresearch, Westgrove, PA, USA). A PVN-t tartalmazó metszeteket nyúl anti-CRH (1:700; Dr W.W. Vale ajándéka, SanDiego, CA, USA) 2% normál szamár szérumos oldatában 18 óráig inkubáltuk. Ezt 2 \times 15 perc PBS-es rázás követett, majd biotinilált második antitestet inkubálás Cy3-konjugált szamár anti-nyúl antiszérummal (1:100; Jackson Immunoresearch). 2 \times 15 perc PBS-es rázást követően a metszeteket zselatinos tárgylemezre húztuk, levegőn megszáritottuk 16 órán keresztül és lefedtük FluorSave (Calbiochem, San Diego, CA, USA) fedőanyaggal.

A kiválasztott agyterületeket a fénymikroszkóphoz tartozó Olympus DP Controller programmal 20x-os nagyítással digitalizáltuk. Ezt követően Scion Image szoftver segítségével a c-Fos pozitív sejtszám meghatározására automatizált módon került sor a következő paraméterekkel: 1360 x 1024 pixel képméret, 1/700 mp exponálási idő, 200 x 200 μm -es négyzet = 40 000 μm^2 terület. Ennek során egy egységes háttérküszöb-érték (threshold) használata mellett a pozitív elemek minimális méretét 20 pixelben határoztuk meg. Minden vizsgált terület esetében 4 reprezentatív síkban számoltunk mindkét oldalon, a területre jellemző standard keretben (18. és 19. ábra).

A CRH metszetek kiértékeléséhez a DM IRE2 konfokális lézer pásztázó mikroszkópon (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) található Leica TCS SP2 AOBS rendszert használtunk. Digitális képeket 125 μm -enkéntől származó metszet sorozatokról készítettünk Bregma -1,3 és -2,1 közt. A képek felbontása 1024 x 1024 volt és az Image J szoftverrel a metszetben lévő immunfluoreszcens idegsejtek számát értékeltük.

Az OT festődés értékeléséhez minden állatból három metszetet választottunk ki az SON középső régiója területéről és konfokális lézer pásztázó mikroszkóp alatt (LSM Pascal, Zeiss, Jena, Germany) vizsgáltuk és fényképeztük. A kiértékelést a kísérleti csoportokat nem ismerő személy végezte AXIOVISION (Carl Zeiss, Jena, Germany) alkalmazásával.



19. ábra Scion Image A kijelölt keretben (ahol az ábrán körülrajzolt pontok láthatóak) számolja meg a program a beállított küszöbnek megfelelően általa pirossal jelzett 20 pixelnél nagyobb pontokat.

4.4.5. In vitro mérések (Statikus inkubálás)

A mellékveséket 8 kisebb darabra vágtuk és 37 °C-os Dulbecco Minimal Essential Medium-ban (DMEM) (tartalmazott még: 2,5 g bovin serum albumin (BSA)/l, és gázkeveréket vezettünk bele: 95%O₂-5%CO₂) 2x1 óra időtartamban előinkubáltuk [342].

A mellékvesékről a preinkubációs idő után a médiumot 15 percenként összegyűjtöttük, majd frissre cseréltük összesen 6-szor. A második 15 perces szakaszban a szerveket ACTH tartalmú DMEM-ben inkubáltuk szintén 15 percig. Az egyes frakciók után a szervekről a médiumot eltávolítottuk, centrifugáltuk (3000g, 5 perc), majd a felülúszót a kortikoszteron szintek méréséig -20 °C-on tároltuk.

4.4.6. Kvantitatív PCR

Nyugalmi állapotban végzett dekapitálás után a lefagyasztott hippocampusz mintákban kvantitatív PCR (polimeráz láncreakció) segítségével határoztuk meg a GR, MR, 11 β HSD1 (aktiváló), 11 β HSD2 (inaktiváló) enzimek [360] mRNS (hírvivő ribonukleinsav) mennyiségét.

Első lépésként megterveztük a szükséges primereket a Primer express 3.0 program segítségével, majd szintetizáltattuk őket. Ezt követően Total RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) segítségével mintáinkból mRNS-t izoláltuk, majd fotometriásan (NanoDrop; Thermo Scientific) megmértük a kivont mRNS mennyiségét. High-capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies, Foster City, CA, USA) használatával a mRNS-t cDNS-é írtuk át. A cDNS mintákat mérések előtt csoportonként „pool”-oztuk. A génexpressziós különbségeket ABI StepOne Real Time PCR-el mértük Power SYBR Green PCR Master Mix (Life Technologies) segítségével a gyártó útmutató szerint. Végül a kapott adatok kiértékelése ABI StepOne Software v2.1 program felhasználásával történt.

Az mRNS szinteket az adott szervben lévő gliceraldehyd-3-foszfát-dehidrogenáz (GAPDH) mRNS szintekhez normalizáltuk. Az értékelés során a felnőtt +/+ állatokat tekintettük kontrollnak, értékük 1. Ehhez viszonyítva adtuk meg a többi csoport szintjét a $2^{-\Delta\Delta C_t}$ módszer segítségével [361].

4.4.6.1. Primerek

GR: forward: 5'-CAT CTT CAG AAC AGC AAA ATC GA-3',
reverse: 5'-AGG TGC TTT GGT CTG TGG GAT A-3';

MR: forward: 5'-CCA AGG TAC TTC CAG GAT TTA AAA AC-3',
reverse: 5'-AAC GAT GAT AGA CAC ATC CAA GAA TAC T-3';

11 β HSD1: forward: 5'-CCT CCA TGG CTG GGA AAA T-3',
reverse: 5'-AAA GAA CCC ATC CAG AGC AAA C-3';

11 β HSD2: forward: 5'-CGC CGC TTC CTA CAG AAC TT-3',
reverse: 5'-TCC TGG GTT GTG TCA TGA ACA-3';

GAPDH: forward: 5'-ACA GCC GCA TCT TCT TGT GC-3',
reverse: 5'-GCC TCA CCC CAT TTG ATG TT-3'.

4.5. Gyomorfekély

A vizsgált állatok gyomrát kivettük, 5 ml (fiatal állatok) vagy 10 ml (felnőtt és idős állatok) sóval feltöltve minimum 30 percig állni hagytuk fiziológias sóoldatban, majd a nagygörbület mentén felvagtuk és kiterítettük. A corpus mucosa-ban kialakult vérzések léziókat operáló mikroszkóp alatt megvizsgáltuk és miliméterskála segítségével területüket megmértük. Egy állat összes fekélyének területét összeadva kaptuk meg a rá jellemző fekélyméretet.

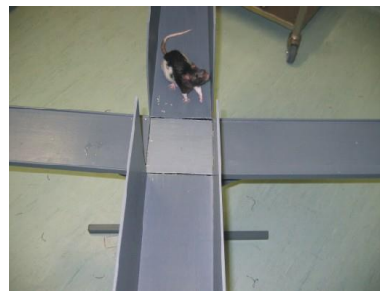
4.6. Magatartási tesztek

A magatartási tesztek végzése során az állatok viselkedését videóra rögzítettük (kivétel: impulzivitás, ahol automata elemzés történt), és a felvételeket később a kezeléseket nem ismerő személy elemezte a H77 elemző program segítségével (intézetünkben Haller József által fejlesztett).

4.6.1. Szorongás és depresszió

4.6.1.1. Emelt keresztpalló (elevated plus maze, EPM)

Ezt a tesztet az állatok szorongásának mérésére kiterjedten alkalmazzák. Egy kereszt alakú, fémből készült megemelt szerkezetet használunk a teszthez, melynek 2 karja nyitott, a másik 2 pedig zárt (20. ábra). A keresztpalló karjai 15 cm szélesek és 50 cm hosszúak. A zárt kart 50 cm magasságú fal veszi körül. A centrum 15 cm x 15 cm nagyságú, és az egész berendezés a padló felett 80 cm-es magasságban van. A teszt elvi alapja, hogy ugyan a patkányok ismeretlen környezetbe kerülve azt igyekeznek bejárni, felfedezni, viszont kerülik a nyitott tereket, így az apparátus nyílt karjaiban kevesebb időt töltenek. Ha szorongásoldó szert (anxiolitikumot) adunk az állatoknak, ez a tendencia megváltozik: a nyitott karban több idő töltenek; ezzel szemben anxiogén vegyület hatására kevesebbet [362].



20. ábra Emelt keresztpalló (saját)

Minden állat után a pallót vízzel lemostuk, hogy az állatokat ne befolyásolják az előttek tesztelt állatok illatanyagai. A patkányokat a centrumba helyeztük orrukkal egy zárt kar felé. Az EPM elemzése a centrumba helyezés pillanatában indult, és összesen 5 perc időtartamú mozgástevékenységet elemeztünk ki. Megfigyeltük, hogy az állat mennyi időt töltött az egyes térrészekben, illetve hányszor lépett be ezekbe (minimum 3 lábbal átlépte át a térrészek közötti

határvonalat). Feltételezésünk szerint a di/di patkányok a fokozott ivási kényszer miatt nagyobb aktivitást mutathatnak, ezért meghatároztunk egy mozgékonyaságtól független paramétert is:

$$\text{Mozgékonyaságtól független nyílt kari aktivitás} = \frac{\text{nyílt kari belépések száma}}{\text{nyílt} + \text{zárt kari belépések száma}} * 100$$

A szorongás mértékének becslésére a nyílt karban eltöltött időszázalékot és a nyílt kari aktivitást (mozgékonyaságtól független paraméter) alkalmaztuk. Minél több időt töltött az állat a nyílt karokban, annál kevésbé tekintettük szorongónak. A zárt kari belépések számát, mint a mozgékonyág mutatószámát használtuk.

4.6.1.2. Kényszerített úszás teszt (forced swim test, FST)

Ezt a tesztet 1977-ben Porsolt írta le, aki az antidepresszáns hatású gyógyszerek teszteléséhez kívánta alkalmazni. Megfigyelése szerint, ha a rágcsálót (patkányt, egeret) egy vízzel feltöltött henger formájú üveg edénybe helyezzük (21. ábra), ahonnan nincs menekülés, az állat bizonyos ideig küzd, majd mintegy feladva, lebegni kezd. Ha antidepresszánt adunk nekik, a lebegés ideje csökken [363].

A tesztet egy 40 cm magas és 14 cm átmérőjű üveg hengert használva végeztük el, melyeket 35 cm magasságig töltöttünk fel $24 \pm 1^\circ\text{C}$ csapvízzel (a teszt paramétereinek hatásáról lásd: [364]). Az eredeti leírás szerint a patkányokban a teszt 2 napból áll. Az első napi úszás során válik „depresszióssá” az állat, míg másnap tesztelhetjük a passzív viselkedés (lebegés) megjelenését, amit a két teszt nap között végzett antidepresszáns kezelés csökkent. Ezért a hímekkel végzett első kísérleteink során mindkét napi tesztek eredményeit ábrázoltuk, de nem találtunk különbséget. Ennek hatására az anyákon való kísérletek során, valamint a perifériás AVP visszafogás esetén is 1 napos tesztet végeztünk, hiszen itt veleszületett tulajdonságot vizsgáltunk. Ez a módszer is kiterjedt irodalommal rendelkezik (pl. [365-367] és egy ismert antidepresszáns, a desipramine is hatékonynak bizonyult egynapos FST teszt során is [368].

A teszt végén az állatokat kivettük a vízből, törölközővel megszáritottuk őket, így kerültek vissza ketrecükbe. Az egyes tesztek között a vizet kicseréltük a hengerben.



21. ábra Kényszerített úszás teszt. Lebegés (saját)

Az értékelés során összesítettük, hogy mennyi időt tölt az állat (1) lebegéssel (feladja a küzdést, mintegy felfújva testét tartja fenn magát és csak az orrát dugja ki a vízből), (2) küzdéssel (a patkány erőteljes mozdulatokkal próbál kijutni a vízből, mellső lábaival áttöri a víz felszínét), (3) úszással (finom koordináló mozdulatok a négy végtaggal a víz felszíne alatt) vagy (4) búvárkodással (az állat a víz alá bukik).

4.6.2. Impulzivitás

Az impulzivitás vizsgálatokat (4.7.2.2.3.) úgynevezett Skinner-boxokban végeztük (22. ábra), melyek számítógép által vezérelt, automatizált operáns kondicionálást lehetővé tevő ketrecek (Med Associates, St. Albans, VT, USA) hangszigetelt fa dobozokban



22. ábra Skinner-box hangszigetelt fa dobozban (<http://www.med-associates.com/product/behavioral-chamber-package-with-retractable-levers-for-rat/>)

elhelyezve. Az operáns kondicionálás során az állatnak azt kell megtanulnia, hogy egy adott viselkedéssel képes a környezetét befolyásolni, jelen esetben táplálékot képes magának adagolni. Ezt a ketrecekben található infravörös érzékelővel ellátott úgynevezett „orrbökő lyuk” (nose-poke hole) segítségével tudják megtenni, melynek megbökésével a két lyuk között található táplálék- (pellet) adagolóban egyenként átlagosan 45 mg tömegű magas cukortartalmú pellet (Dustless Precision Pellets, Bio-Serv, USA) jelenik meg. Az orrbökő lyukban található érzékelő jeleinek feldolgozását és a táplálékpelletek adagolását a MED-PC IV (Med Associates, St. Albans, VT, USA) szoftver végezte. A tesztek során az állatok 30 percet tartózkodtak a ketrecben (egy állat mindig ugyanabban), majd tömegmérés után a saját dobozukba kerültek vissza. A ketreceket minden állat között 70%-os alkohollal átitatott törlőkendővel, majd szárazra törölve tisztítottuk ki. A protokoll szerint attól függően, hogy melyik oldali lyukba dugták az orrukat 1 vagy 5 db táplálékpellethez jutottak az állatok. A nagy jutalomhoz rendelt oldal random módon lett meghatározva, de egy állat esetében a kísérlet egésze alatt ugyanaz maradt. A jutalom megjelenésével egy időben a kamravilágítás 25 másodpercre felkapcsolódott, mintegy figyelemfelhívásként elősegítve a tanulást [369]. Ez idő alatt (holtidő, time-out) új jutalmat az állat nem tudott szerezni, de a rendszer az ez idő alatt adott válaszokat is regisztrálta.

A kísérlet 2 fázisból állt:

1. *tréning fázis*: az 5 napig tartó kondicionálás alatt az állat az orrbedugás után azonnal megkapta a jutalmat. Ezzel az állatok kognitív képességei is felmérhetőek, hiszen

láthattuk, hogy a napok előrehaladásával mennyire voltak képesek megtanulni, hogy melyik oldali jeladó használatával jutnak több táplálékhoz. A tréning fázist akkor tekintettük sikeresnek, ha a végére minden állat 90% feletti preferenciával a nagy jutalmat eredményező oldalt választotta [370].

2. *teszt fázis*: a következő 8 napban az orrbedugás és a nagy jutalom megjelenése között eltelt időt napról-napra növeltük (10, 20, 30, 45, 60, 80, 100 és 120 sec). A késleltetés növekedésével a több jutalmat eredményező lyuk preferenciája elkezd csökkenni. Fokozott impulzivitású állatok az átlagosnál hamarabb, rövid késleltetésnél is már a kisebb jutalommal járó lyukat preferálják [306, 371, 372] (döntési impulzivitás), illetve a késleltetés és a holtidő alatt is fokozottan próbálnak újabb jutalomhoz jutni (motoros impulzivitás).

A vizsgálatok során a következőket értékeltük:

- *kis jutalmat eredményező lyuk preferenciája*, mely a döntési impulzivitás szintjével arányos

$$\text{Preferencia (\%)} = \frac{\text{kis jutalmat eredményező válaszok száma}}{\text{összes jutalmat eredményező válaszok száma}} * 100$$

- *inadekvát válaszok száma*: a késleltetés és a holtidő alatt leadott összes válasz száma, mely a motoros impulzivitás szintjét mutatja

4.6.3. Agresszió: rezidens betolakodó teszt

Agresszió vizsgálatát az állatok aktív (sötét) periódusának elején végeztük el enyhe vörös megvilágítás mellett, hiszen irodalmi adatok alapján a patkányok agresszivitása ekkor magasabb [373]. A rezidens-betolakodó

teszt (resident-intruder, RI) során a vizsgált állat (rezidens)

min. 3 napot töltött a teszt dobozban (Ferplast Geo Maxi 42x26x30 cm) mintegy sajátjának tekintve azt. A teszt kezdetén a tesztállathoz egy hím Wistar patkányt tettünk be (250-300g) (a hímeknél kisebb, a nőstényekhez képest közel azonos súlyú) 20 (hímek) vagy 10 (anyák) percre és kamerával rögzítettük tevékenységüket.

Az agresszió teszt során a harapások számát és minőségét figyeltük meg a video lassított visszajátszásával, s feljegyeztük azok előfordulásának számát és latenciaidejét. A minőségi különbségtételre azért volt szükség, mert tapasztalataink szerint a mennyiségi jellegeknél (vagyis hogy az agresszió mértéke meghaladja-e az adott helyzetben normálisnak tekinthető szintet)



23. ábra Támadások célpontjai: sérülékeny és nem-sérülékeny területek (csoportunk ábrája)

sokkal megbízhatóbban jellemzik az agresszió kóros elváltozásait [278]. A teszt során abnormálisnak tekintjük, ha az állat a fajspecifikus szabályokat figyelmen kívül hagyja (sérülékeny testrészekre harap, nem jelzi előre a támadásokat, a támadást folytatja, miután az ellenfél megadta magát), illetve ha ellentmondásos viselkedési változások jelennek meg (például fokozott a védekező és az agresszív magatartás is) [282]. Megfigyeltük, hogy a harapás célpontja mennyiben felel meg a fajra jellemző normális támadásmintázatnak. **Veszélyes harapásoknak** tekintettük a sérülékeny testrészekre irányuló harapásokat (fej, torok, has), míg a háti testrészeken (hát, oldal) történt harapásokat **nem veszélyes harapásoknak** tekintettük (23. ábra). Aszerint, hogy a rezidens állat mennyiben jelzi előre harapásait, vagyis a harapást közvetlenül megelőző 5 másodpercben megfigyelhető-e fenyegető magatartás (például agresszív kurkászás, oldalfenyegetések (borzolt szőrzettel, ívelt háttal közeledés), két lábra felegyenesedés után boxolás, üldözés), **jelzett és nem jelzett harapásokat** különítettünk el. Különbséget tettünk még **enyhe és durva harapások** között az alapján, hogy társul-e rúgással és a betolakodó mutat-e annak következtében erős összerezzenési, fájdalmi reakciót, illetve behódolást.

4.7. Kísérleti protokollok

Az 4. táblázat (következő oldal) összefoglalja a vizsgált témát, mért paramétereket, módszereket és a vonatkozó saját cikket.

4. táblázat A kísérletek, mért paraméterek és módszerek összefoglalása az ábrák számával és az eredeti cikk megjelölésével.

Speciális rövidítések: Kort: kortikoszteron, mv: mellékvese; a cikkek teljes hivatkozását lásd a disszertáció végén

Kísérlet		Mérés	Mód-szer	Saját vonatkozó cikk	
HHM tengely					
Krónikus stressz					
Brattleboro 26-28. ábra	14R	POMC Kort	in situ RIA	Zelena és mtsai 2004 BRB	Makara és mtsai 2004 Annals
	Mo			Domokos és mtsai 2008 JEnd	
	DM			Zelena és mtsai 2006 AJP és BRB	
Anya 29-31. ábra		CRH Kort mv c-Fos	in situ RIA súly immun	Fodor és mtsai 2013 HormBehav	
				Bundzikova és mtsai 2007 JPP	
Akut stressz					
Hímek 6. táblázat, 32. ábra		ACTH Kort	RIA	Zelena és mtsai 2003 JNeu, 2004 Annals; Makara és mtsai 2004 Annals, Zelena és mtsai 2005 BrainRes, Barna és mtsai 2009 EndReg, Zelena és mtsai 2009 JEndo	
		CRH	immun	Sterrenburg és mtsai, 2011 BrainRes	
Dialízis 33-35. ábra	PVN	Kort	RIA	Zelena és mtsai 2009 Endo	
	SON	OT	in situ immun RIA	Bundzikova és mtsai 2008 Annals, Zelena és mtsai 2013 JNeu	
Perinatális stressz					
Akut stresszor 36-38. ábra		ACTH Kort	RIA	Zelena és mtsai 2008 Endo, 2011 Stress, Makara és mtsai 2012 CEMN	
ACTH- Kort disszociáció 39. ábra 40. ábra 41. ábra 42-43. ábra 44-45. ábra	Idő	ACTH Kort	RIA	Zelena és mtsai 2008 Endo	
	Kort	CBG	gél	Zelena és mtsai 2011 Stress	
	mv in vitro	Kort	RIA	Zelena és mtsai 2008 Annals Zelena és mtsai 2011 Stress	
	symp	Adr Kort	ELISA RIA	Zelena és mtsai 2008 Annals Makara és mtsai 2012 CEMN	
	MC	Kort Aldo	RIA	Varga és mtsai 2013 PlosOne	
		MR GR HSD1/2	PCR		

Kísérlet	Összehasonlítás	Módszer	Saját vonatkozó cikk
Patológia			
<i>Gyomorfekély</i> 46. ábra	Kor	Fekély mérete	Zelena és Filaretova 2010 RegPep
<i>Szorongás és depresszió</i> 47. ábra	Hímek	EPM, FST	Mlynarik és mtsai 2007 HormBeh
			Fodor és mtsai 2012 HormBeh
<i>DDAVP</i> 48. ábra		EPM, FST	Balázsfi és mtsai 2014 PNeu
<i>Impulzivitás</i> 49. ábra	Hím-Anyá	Operáns kondicionálás	Aliczki és mtsai 2014 HormBeh
<i>Agresszió</i> 50-51. ábra	Hím-Anyá	RI	Fodor és mtsai 2014 PNeu

4.7.1. A HHM tengely

4.7.1.1. Krónikus stressz

4.7.1.1.1. Két hetes krónikus stresszmodellek Brattleboro patkányokban

Vizsgált paraméterek: AL POMC mRNS szintje (4.4.3.) és plazma kortikoszteron szint (4.4.1.1.).

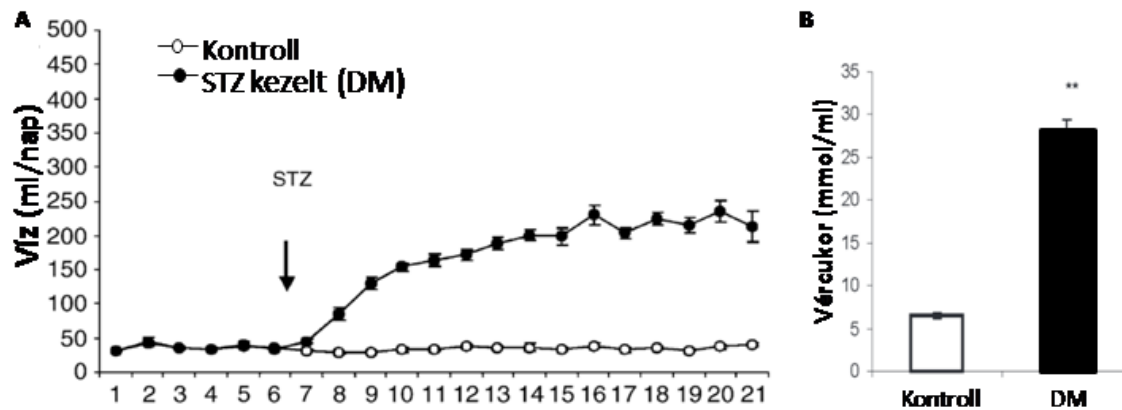
4.7.1.1.1.1. Ismételt mozgáskorlátozás (*restraint, R*)

Ez a stressz a teljes immobilizációnál enyhébb mozgáskorlátozási forma [374]. Az immobilizáció esetén az állat nem képes semmilyen mozgásra. Mozgáskorlátozás esetében az állatokat egy kónikus szűkülő műanyag csőbe helyeztük 1 órára. A stressz a kísérlet időtartama alatt minden nap ugyanabban az időben következett be délelőtt 9 és 12 óra között. A cső szűk végén az állat szabadon kapott levegőt, másik végét papírvattával szorosan kitömtük, így az állat megfordulni ugyan nem tudott, de kisebb mozgásokra képes volt. A kontroll állatokat saját dobozukban tartottuk.

A stresszort 14 napon keresztül alkalmaztuk napi 1 órán át és a mintavételezésre a 15. napon, 24 órával az utolsó stresszor után, nyugalmi körülmények között került sor (14R).

4.7.1.1.1.2. Cukorbetegség (*diabetes mellitus, DM*)

A patkányok farokvénájába intravénásan (iv) streptozotocint (STZ, 60 mg/kg; Sigma-Aldrich, Budapest, Magyarország, pufferben oldva) vagy citrát puffert (pH=5) adtunk rövid (max. 2 perc) mozgáskorlátozás során. Az STZ kezelés szelektíven roncsolja a hasnyálmirigy inzulin-termelő béta sejtjeit, így általánosan elterjedt kísérleti modellje a cukorbetegségnek [375]. A következő 2 hétben az állatok nyugalomban maradtak (a heti testsúlymérés és kétnaponkénti almozást, valamint napi vízmérést kivéve). A mintavételezésre az injekciót követő 15. napon került sor.



24. ábra Streptozotocin injekciót követő A. vízfelvétel (naponta követve) és B. vércukorszint változás hím di/+ patkányokban (Zelena és mtsai, 2006 AJP és BRB)

Az injekciót követően a kialakuló DM jeleként az állatok vízfogyasztása fokozatosan nőtt (24. ábra A), és ezzel összhangban a 15. napon a vércukorszintjük is emelkedett értékeket mutatott (24. ábra B).

4.7.1.1.1.3. Morfin kezelés (Mo)

Korábbi tanulmányokat alapul véve [376, 377] az állatok naponta kétszer, reggel 7 és este 7 órakor 16 egymást követő napon szubkután (sc) morfint kaptak [336]. A dózis 10mg/kg-ról indult és naponta 10 mg/kg-mal emelkedett elérve a 10. napra a 100 mg/kg-os dózist. A 11.-16. napig az állatok a megszokott időpontokban 100 mg/kg dózisban kaptak sc injekciót. A 17. napon, vagyis a dekapitáció reggelén az állatoktól a farokvénából (a lehető legkisebb stresszt okozva) vérmintát vettünk. Minden csoportban az állatokat az utolsó injekciót követő négy óra múlva, délelőtt 11 órakor dekapitáltuk. Utolsó injekcióként a morfin kezelt állatok fele reggel 7-kor a megszokott morfin helyett fiziológiás sóoldatot kapott (vagyis a morfin elvonás 16 órás), míg a csoport másik fele a szokott időben 100 mg/kg dózisban ismét morfint kapott (itt 4 órás a morfin elvonás). Mivel a 16 és 4 órás morfin elvonáson átesett állatok POMC mRNS szintjei nem különböztek, ezért ezek adatait összevontuk, valamint a kortikoszteron szinteket az utolsó injekció időpontjában (16 órával az utolsó morfin injekció után, reggel 7-kor vett farokvér) ábrázoltuk.

4.7.1.1.2. Az anya HHM tengelyének vizsgálata

A szülés utáni 20-22. napon az anyákból, valamint szűz kontroll nőstényekből nyugalmi körülmények között mintát gyűjtöttünk [378]. A mellékvesék súlyát megmértük. A koponyából

az agyukat gyorsan kivettük a CRH mRNS szintek in situ hibridizációval történő meghatározásához (4.4.3.). A vérmintákból kortikoszteron meghatározást (4.4.1.1.) végeztünk.

Külön kísérletsorozatban az anyákat 17-20 nappal a szülést követően alap állapotban vagy egy 15 perces FST után perfundáltuk c-Fos immunhisztokémia céljából (4.4.4.). Az FST során magatartásukat is megvizsgáltuk (4.6.1.2.) [277].

4.7.1.2. Akut stressz kísérletek

4.7.1.2.1. Különféle stresszorok alkalmazása

4.7.1.2.1.1. Különféle akut stresszorok összehasonlítása

	Stressz	Vérvétel módja	Cikk
1	Szociális elkerülés	farokvágás	Zelena és mtsai 2009
2	EPM	farokvágás	Zelena és mtsai 2009
3	Újdonság	dekapitálás	Zelena és mtsai 2009
4	LPS	dekapitálás	Zelena és mtsai 2009
5	Hipoglikémia	dekapitálás	Zelena és mtsai 2009
6	WIN 55,212-2 (CB1 agonista)	dekapitálás	Barna és mtsai 2009
7	Éter stressz	iv	Zelena és mtsai 2009
8	Térfogati stressz	iv	Makara és mtsai 2004, Zelena és mtsai 2009
9	Hipertóniás só	iv	Makara és mtsai 2004, Zelena és mtsai 2009
10	Anafilaktoid reakció	iv	Zelena és mtsai 2009
11	Lábsokk doboz	iv	Zelena és mtsai 2009
12	Lábsokk	iv	Zelena és mtsai 2009
13	Mozgáskorlátozás	iv	Zelena és mtsai 2009
14	Szociális kudarc	iv	Zelena és mtsai 2009
15	Ulcerogén hideg stressz	iv	Zelena és mtsai 2009
16	FST	iv	Zelena és mtsai 2009
17	Morfín kezelés	iv	Domokos és mtsai 2008
18	NMDA kezelés	iv	Zelena és mtsai 2005
19	Kainát kezelés	iv	Zelena és mtsai 2005

5. táblázat Akut stresszorok összefoglalása a vérvétel módja szerint csoportosítva

A hím Brattleboro állatokat többféle akut stressznek (5. táblázat) tettük ki a cikkekben [226, 341, 379, 380] leírt módokon, melynek során a végén egy időpontban (farokvágás, vagy dekapitálás) vagy több időpontban (juguláris vénán keresztül) vérmintát gyűjtöttünk ACTH (4.4.1.2.) és kortikoszteron (4.4.1.1.) meghatározás céljából.

4.7.1.2.1.2. Éter stressz

Az állatokat egy éterrel átítatott papírvattával bélelt, fedett üvegedénybe helyeztük 1 percre. Az üvegből kivéve őket, az orrukra éterrel átítatott vattát tartalmazó, kónikusan szűkülő csövet helyeztünk újabb 2 percig anesztéziában tartva az állatokat, majd visszahelyeztük őket a ketrecükbe. A kontroll állatokat a dobozukból kivéve azonnal, a stresszelt állatokat a kísérlet kezdetétől számított 90 perc múlva perfundáltuk (4.2.2.) és az agyukon CRH immunhisztokémiát végeztünk (4.4.4.) [359].

4.7.1.2.2. Mikrodialízis vizsgálatok

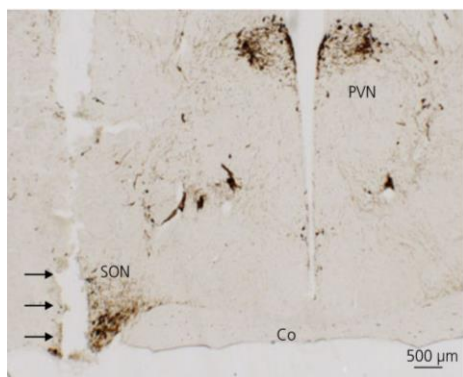
4.7.1.2.2.1. PVN

Az első kísérlet során vérmintákat gyűjtöttünk a 10 perces FST (4.6.1.2.) előtt, alatt (FST megkezdése után 2 perccel) és után (15 és 105 perccel az FST kezdete után) [352].

A második kísérletsorozat során vérminták gyűjtésére került sor a fenti időpontokban, miközben az állatokba AVP (10 µg/ml; [deamino-Cys-Val-D-Arg]vasopressin; Sigma, Taufkirchen, Germany) vagy Ringer oldatot jutattunk retrodialízissel.

4.7.1.2.2.2. SON

Az első sorozat állatból az agyminták nyugalomban vagy 4 órával egy 10 perces FST-t követően kerültek gyűjtésre OT in situ hibridizáció céljára (4.4.3.).



25. ábra A mikrodialízis mintavevő SON-be való beültetésének szövettani képe. Co: chiasma opticum, látóideg kereszteződés (Zelena és mtsai, 2013, 1. ábra alapján)

A következő állatok alap állapotban kerültek perfundálásra OT immunhisztokémia céljából (4.4.4.).

A harmadik sorozat állatba mikrodialízis mintavevőt ültettünk (25. ábra) (4.3.1.) és 10 perces FST előtt (1-2-es minta), alatt (3-as minta) és után (4-6. minták) 100µl-es mikrodialízis mintákat gyűjtöttünk egyenként 30 perc alatt. A v. jugulárisba ültetett kanulön keresztül (4.2.3.) vérmintákat is gyűjtöttünk a fentebb is említett -30, 2, 15 és 105 percekben a plazma OT koncentrációjának meghatározása céljából (4.4.1.3.).

4.7.1.3. Perinatális kor

4.7.1.3.1. Akut stresszor

Mivel az állatok vízfogyasztásának tesztelése csak az anyától való elválasztás (21 napos életkor) után lehetséges, e kor előtt csak az utólagos AVP szintmérés után sorolhattuk be a kölyköket a két genotípus valamelyikébe. Ezért minden kísérlet végén a vérmintákon kívül (ACTH (4.4.1.2.) és kortikoszteron meghatározás (4.4.1.1.)) a kispatkányok hipofízisét is gyűjtöttük AVP meghatározás (4.4.1.4.) céljából. A kísérletek során az egy alomban született összes kölyköt felhasználtuk, a nemek között különbséget nem tettünk.

4.7.1.3.1.1. Anyai szeparáció

Az egy alomban született kispatkányok felét 9 napos korukban 24 órára elválasztottuk az anyjuktól. A kispatkányok egy új, tiszta almot tartalmazó dobozba kerültek élelem, víz vagy melegítés nélkül. A kispatkányokat az elválasztási periódus után dekapitáltuk, a törzsvért K₂-EDTA tartalmú csövekbe fogtuk fel.

4.7.1.3.1.2. Éter stressz

A tíz napos állatokat 3 csoportra osztottuk:

1. Kontroll állatok az anyjukkal maradtak a mintagyűjtésig.
2. Egyszeres éter stressz a 4.7.1.2.1.2. pontban részletezett módon 3 percre, majd az állatokat külön dobozba tettük és 10 perccel a stressz kezdete után dekapitáltuk.
3. Ismételt stressz az első éter belélegzést követő 60. percben az első stresszel megegyező módon (3 percre) történt, majd az állatokat 70 perccel az első stressz megkezdése után dekapitáltuk.

4.7.1.3.1.3. Lipopoliszaccharid injekció (LPS)

Az LPS a Gram negatív baktériumok sejtfalának alkotórésze, így erős immunogén. Ezzel az injekcióval egy természetben előforduló stresszor, a bakteriális fertőzés modelljét tudjuk vizsgálni.

A kísérlet során az állatok steril, fiziológiás só oldatban feloldott Escherichia Coli bakteriális LPS-t (szerotípus O55:B5) vagy fiziológiás sóoldatot kaptak ip 100µg/1ml/kg koncentrációban. A kisállatokat filctollal megjelöltük és visszakerültek az anyjukhoz. Az állatokat az injekció beadása után 2 óra múlva dekapitáltuk.

4.7.1.3.1.4. *Hypnom injekció*

A Hypnorm egy széles körben használt anesztetikum, mely fentanil és fluanizon kombinációja (Hypnorm; Janssen Pharmaceuticals, Grove, Oxford, UK), és a fentanil komponense, mint μ -opiát agonista a gyermekgyógyászati műtétek során is általánosan alkalmazott [342].

A 10 napos kispatkányoknak súlymérés után 1 μ l/g dózisban adtuk be ip (a kontrollok fiziológiás sóoldatot kaptak), az állatokat megjelölük, anyjukhoz visszaraktuk majd 60 perc múlva dekapitáltuk.

4.7.1.3.2. *Eredmények megerősítése más vazopresszin-hiányos modellekben*

4.7.1.3.2.1. *Vazopresszin antiszérum perinatális korban*

Normál AVP-jű +/- állatoknak 15 perccel az LPS kezelés előtt ip AVP antiszérum (20 μ l 40 mg/ml oldatból) vagy kontroll (normál nyúl szérum, NRS) injekciót adtunk [381]. Az injekciót követően a kicsiket szagtalan filctollal megjelöltük, és szüleik mellé visszahelyeztük. A kísérlet menete a 4.7.1.3.1.3. szerint történt.

4.7.1.3.2.2. *V1b antagonist*

Normál AVP-jű +/- állatokon V1b antagonist előkezelést alkalmaztunk. 15 perccel az LPS kezelés előtt ip V1b antagonist (SSR149415 10mg/1ml/kg), vagy kontroll (0,9%-os só oldat és pár csepp Tween 80) [224] injekciót adtunk. Az injekciót követően a kicsiket szagtalan filctollal megjelöltük, és szüleik mellé visszahelyeztük. A kísérlet a 4.7.1.3.1.3. szerint történt.

4.7.1.3.3. *ACTH és kortikoszteron disszociáció*

Annak vizsgálatára, hogy a kortikoszteron szintek nem minden esetben követték az ACTH szinteket először is ki kellett zárni számos, mérés technikai problémából adódó lehetőséget, amik a két hormon látszólagos különbségéhez vezethettek (2.4.3.2.1.).

4.7.1.3.3.1. *Időgörbe*

A két hormon eltérő időbeli lefutása egy lehetséges magyarázat volt a stresszre adott ACTH válasz elmaradására.

A 9 napos kispatkányokat a 4.7.1.3.1.1. pontban leírtak szerint választottuk el az anyától, de a dekapitálás az elválasztás után 1, 4, 12 illetve 24 óra múlva történt.

4.7.1.3.3.2. Kortikoszteron kötő fehérje (CBG)

Mivel a RIA a teljes kortikoszteron mennyiséget méri, de a hatásokért a szabad hormonszintek a felelősek, ezért az eltérést okozhatta a CBG szintek különbsége.

Nyugalmi állapotban vérmintát gyűjtöttünk mindkét genotípusú állattól CBG meghatározásra (4.4.2.).

4.7.1.3.3.3. *In vitro* vizsgálatok: mellékvese inkubálás

A mellékveséket a 4.4.5. pontban említett módon dolgoztuk fel. Az inkubálások során 10^{-12} , 10^{-11} és 10^{-10} M ACTH tartalmú DMEM-et alkalmaztunk. Az egyes koncentrációk esetén kiszámoltuk a kísérlet egésze alatt szekretált kortikoszteron mennyiségét (görbe alatti terület (integrál), area under the curve, AUC), valamint a reprezentatív középső (10^{-12} M) dózisra az adatokat az első frakció százalékában fejeztük ki, hogy a szövetmennyiség eltéréséből adódó különbségeket kiküszöböljük.

4.7.1.3.3.4. A szimpatikus idegrendszer, katekolaminok szerepe

4.7.1.3.3.4.1. Hormonszintek mérése

10 napos kispatkányokból nyugalmi körülmények között és ismételt éter belézés után 10 perccel (4.7.1.3.1.2., 70 perces minták) vérmintákat gyűjtöttünk adrenalin és noradrenalin (4.4.1.5.) meghatározás céljából.

4.7.1.3.3.4.2. β adrenerg antagonisták előkezelés hatása hipoglikémiás stresszre

Ebben a sorozatban csak 10 napos AVP-hiányos állatokat alkalmaztunk.

Az inzulin adagolással létrehozott élettani állapot (hipoglikémia) humán betegségeknek is megfigyelhető (pl. cukorbetegség), azok modellezésére alkalmas [360].

A 10 napos kispatkányokat 4 órán át éhezttettük (anyai szeparáció), majd az állatok felét propranolollal (10^{-5} M, β adrenoceptor antagonisták, 2.2.3.1.1.), másikat fiziológiás sóval (1 μ l/g) kezeltük ip. 15 perccel később minden csoport fele Actrapid (gyors hatású inzulin; 3NE/2ml/kg, ip) injekciót, míg másik fele fiziológiás só oldatot kapott. Az Actrapid csökkenti a vér glükóz szintjét, ami hormonális stressz-választ vált ki [156]. A kezelés után a kisállatokat szagtalan filctollal történt jelölést követően dekapitálásig visszahelyeztük szüleik mellé az alomba. 90 perccel a kezelést követően dekapitáltuk az állatokat kortikoszteron (4.4.1.1.) meghatározás

céljából. A hipoglikémia kialakulását a dekapitáláskor kereskedelmi forgalomban kapható (D-Cont Personal, 77 Elektronika Kft., Budapest, Hungary) vércukorszint mérővel ellenőriztük.

4.7.1.3.3.5. Mineralokortikoidok

A perinatális kor sajátosságainak felderítéséhez szükségesnek látszott egy kísérletben közvetlen összehasonlítást végezni a felnőtt és 10 napos állatok között.

Hipoglikémiás stresszor (4.7.1.3.3.4.2.) alkalmazásával felnőtt és 10 napos Brattleboro patkányok kortikoszteron (4.4.1.1.) és aldoszteron (4.4.1.6.) szintjeit hasonlítottuk össze. A felnőtt állatokban 24 órás éhezést alkalmaztunk.

Egy következő sorozatban nyugalmi állapotban mintát gyűjtöttünk 10 napos és felnőtt állatok hippocampusából mRNS szintek meghatározásához (MR, GR, 11 β HSD1 és 2, PCR (4.4.6.)).

4.7.2. Patológia

4.7.2.1. Gyomorfekély

24 óra éhezést követően (tisztá, alom mentes dobozban, víz szabadon állt rendelkezésre) az állatokat indometacin ulcerogén adagjával (35mg/kg) kezeltük sc, majd az állatokat egy tiszta ketrecbe tettük (hogy a koprofágiát elkerüljük). Az oldatot frissen oldottuk fiziológiás sóoldatban néhány csepp Tween 80 hozzáadásával (állandó keverés az injekciók alatt) és 5ml/kg térfogatban került beadásra. Az állatokat 4 óra múlva dekapitáltuk és gyomrukat a 4.5. pontban részletezett módon megvizsgáltuk.

Először fiatal (kb 4 hetes), felnőtt (kb 8 hetes) és idős (kb 1 éves) di/+ állatokat hasonlítottunk össze [244], majd a második kísérletsorozatban fiatal és idős állatok mindhárom (+/+, di/+ és di/di) genotípusát is megvizsgáltuk.

Egy következő kísérlet sorozatban fiatal és idős +/+ és di/di állatoknak 4 órával az indometacin injekció után visszaadtuk a táplálékukat, majd a következő napokban követtük a túlélést [243].

4.7.2.2. Pszichiátriai jellegű eltérések

4.7.2.2.1. Szorongás- és depresszió-szerű tünetek

Külön sorozat hím állaton vizsgáltuk az EPM (4.6.1.1.), illetve az egymást követő két nap 10-10 perces FST (4.6.1.2.) alatti magatartásukat is.

4.7.2.2.2. Perifériás vazopresszin hatása a szorongás- és depresszió-szerű tünetek megjelenésére

A DDAVP tartalmú ozmótikus minipumpa beültetését követő 4. napon az állatokat 10 min FST tesztben vizsgáltuk, míg a 14. napon EPM teszten estek át [354].

4.7.2.2.3. Impulzivitás

Az állatok a kísérlet teljes hossza alatt korlátozás nélkül hozzájutottak az ivóvízhez, azonban a táplálékukat a teszt elkezdése előtt kb. 4 naptól kezdve napi 6 darab pelletre (átlagosan 20 g) korlátoztuk, melyet minden nap a teszt befejeztével kaptak meg. Így a teszt előtti éhségüket motivációs tényezőként használtuk fel a kísérlet során.

A tesztet felnőtt hímeken, illetve anyáknál az ellést követően 2-5 nappal kezdtük meg és az állatok világos fázisának első óráiban hajtottuk végre. A tréning fázis 5 napig és a teszt fázis 8 napig tartott (4.6.2.). A testtömegüket és a vízfogyasztásukat minden nap mértük, és a napi táplálékadagjukat úgy módosítottuk, hogy ne essenek a kiindulási tömegük 80%-a alá. Emellett az anyáknál a fészek össztömegének gyarapodását is figyelemmel kísértük, hogy a táplálék korlátozása az utódok fejlődését ne hátráltassa.

4.7.2.2.4. Agresszió

Ennél a kísérletsorozatnál felnőtt hímeket, idősebb, szexuálisan tapasztalt hímeket (az anya, illetve kicsinyek min. 3 hétig együtt tartva velük és a kísérlet előtt 1 órával eltávolítva a dobozból), valamint anyákat a szülést követő 5-6. és 18-19. napokon (kicsik a teszt során is velük maradtak) teszteltünk az RI tesztben (4.6.3.) [382, 383]. A hímeket 20 percig, az anyákat (a durva agresszió megjelenése miatt) 10 percig teszteltük.

4.8. Statisztika

Az adatokat átlag + standard hiba (SEM) formában ábrázoltuk. Adatainkat az Statistica programcsomag (Tulsa, OK, USA) ANOVA/MANOVA moduljával értékeltük ki. Azoknál az eseteknél, ahol ismételt mintavétel történt „repeated measure” ANOVA analízist végeztünk (az idő hatása). Azoknál a kísérleteknél ahol egyetlen szempont szerinti összehasonlítás történt (pl. genotípus) az „egyutas” („one-way”) ANOVA-t használtunk. Több szempont szerinti

összehasonlítás esetén a megfelelő ANOVA modul került kiválasztásra. Azokban az esetekben ahol elvégezhetőek voltak a „post-hoc” tesztek a Newman-Keuls módszert használtuk.

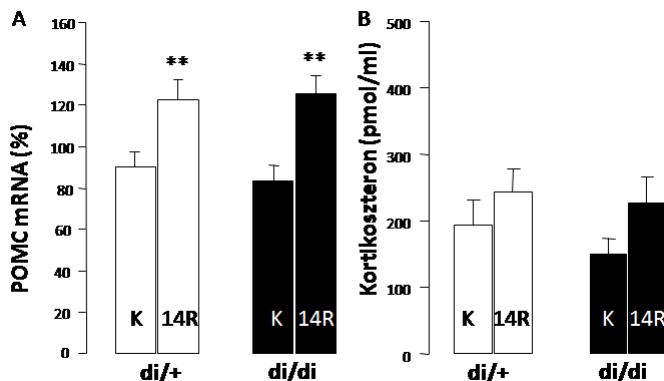
A variancia homogenitását Levene's tesztel vizsgáltuk. Abban az esetben, ha ez szignifikáns eredményt adott, az eredményeket nem paraméteres Kruskal Wallis módszerrel elemeztük ki, ahol a páros összehasonlításokra Mann-Whitney tesztet alkalmaztunk.

A szignifikancia szintjét $p=0,05$ -nél állapítottuk meg. A szövegben a fő hatások kerültek feltüntetésre, míg az ábrákon a „post-hoc” összehasonlítások eredménye szerepel. A részletesebb statisztikai adatokat (pl. szabadsági fokok, F értékek) lásd a vonatkozó cikkekben.

5. Eredmények

5.1. Krónikus stressz

5.1.1. Két hét stressz hím Brattleboro állatokban



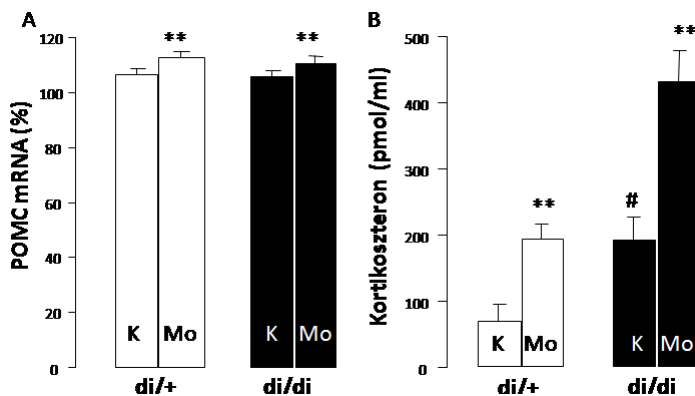
26. ábra Ismételt mozgáskorlátozás Brattleboro patkányban. K: kontroll, nem stresszelt 14R: ismételt mozgáskorlátozás. (n=11-12 (A); n=19-22 (B)) ** $p < 0,01$ vs kontroll (Zelena és mtsai, 2004)

Napi 1 óra mozgáskorlátozás 2 héten keresztül (**14R**) krónikus stresszt hozott létre a Brattleboro állatokban, aminek jeleként az AL-jukban megemelkedett a POMC mRNS szintje (26. ábra A, stressz: $p < 0,01$), valamint a plazmájukban a kortikoszteron szint is (26. ábra B, stressz: $p < 0,05$). Nem volt szignifikáns különbség a heterozigóta (*di/+*) és *di/di* állatok

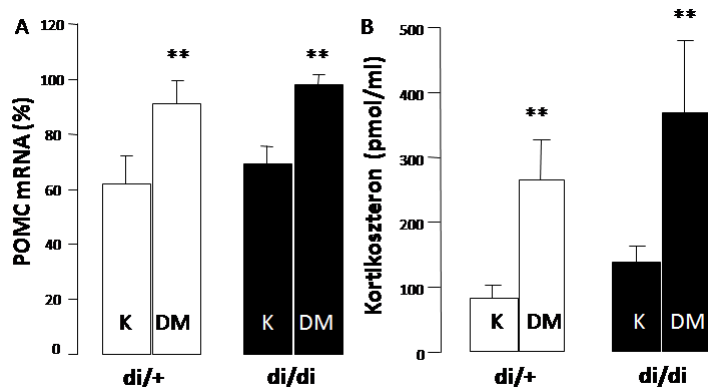
között sem alap állapotban, sem 14R után.

A krónikus morfin kezelés (**Mo**) szignifikánsan emelte a POMC mRNS mennyiségét az AL-ben (27. ábra A, stressz: $p < 0,01$), ami azonban nem különbözött a két genotípusban.

Az AVP hiánya önmagában is emelkedett nyugalmi kortikoszteron szinteket okozott (27. ábra B, genotípus: $p < 0,01$). A krónikus morfin kezelés mindkét genotípusban ugyanolyan mértékben emelte a kortikoszteron szinteket (stressz: $p < 0,01$), azaz a genotípus nem befolyásolta a stresszhatást (nem volt interakció a genotípus és stressz között).



27. ábra Ismételt morfin injekciók Brattleboro patkányban. K: kontroll, Mo: krónikus morfin kezelés. (n=10-12 (A); n=19-36 (B)) ** $p < 0,01$ vs kontroll; # $p < 0,05$ vs *di/+* (Domokos és mtsai, 2008)



28. ábra Cukorbetegség Brattleboro patkányban. K: kontroll, DM: cukorbeteg. (n=6-11 (A); n=8-11 (B)) **p<0,01 vs kontroll (Zelena és mtsai, 2006)

Az STZ injekció a Brattleboro patkányokban is kialakította a cukorbetegséget (DM). A krónikus HHM tengely aktiváció jeleként az AL-ban a POMC mRNS megemelkedett (28. ábra A, stressz: p<0,01) és a plazma kortikoszteron szintek is megnöttek (28. ábra B, stressz: p<0,01).

A két genotípus között azonban nem volt különbség sem alap állapotban, sem a krónikus stressz hatását illetően.

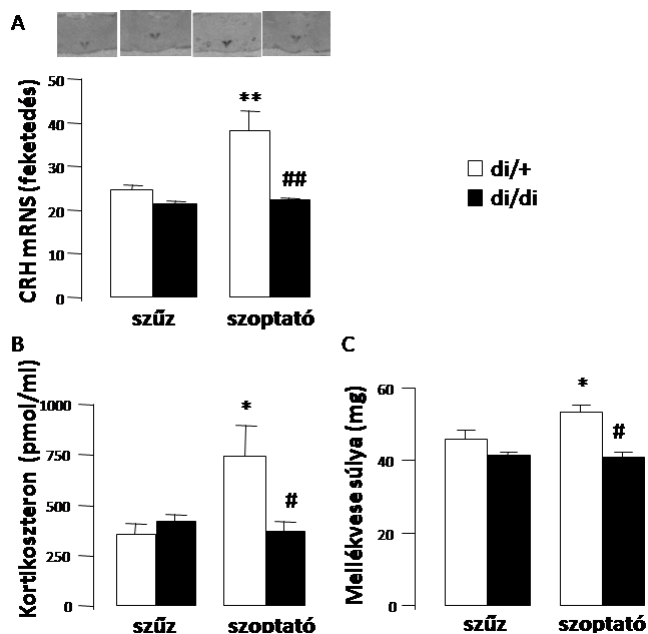
5.1.2. Krónikus HHM tengely aktivitás a szoptató Brattleboro patkányokban

A *CRH mRNS* szint a PVN-ben szignifikánsan megemelkedett a laktáló anyákban a szüzekhez képest (29. ábra A, szoptatás: p<0,01), viszont ez az emelkedés valójában csak a kontroll, di/+ egyedekben jött létre (szoptatás és genotípus interakciója: p=0,01). A di/di-s állatok

CRH mRNS szintje általában is alacsonyabb volt a di/+ állatokhoz képest (genotípus: p<0,01).

A kortikoszteron szintje a terhesség-szoptatás hatására megnőtt a kontroll, di/+ állatokban, de ez az emelkedés az AVP-hiányos anyákban elmaradt (29. ábra B, szoptatás és genotípus interakció: p=0,01).

A mellékvesék súlyát a terhesség-szoptatás csak a kontroll, di/+ állatokban növelte meg (29. ábra C, szoptatás és genotípus interakció: p<0,01). Viszont az AVP-hiányos állatoknak eleve kisebb volt a mellékvese tömegük (genotípus: p<0,01).



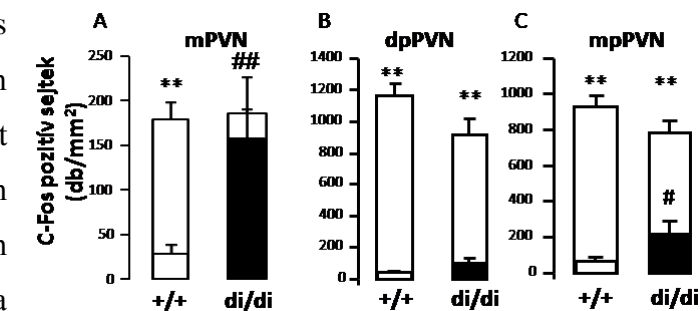
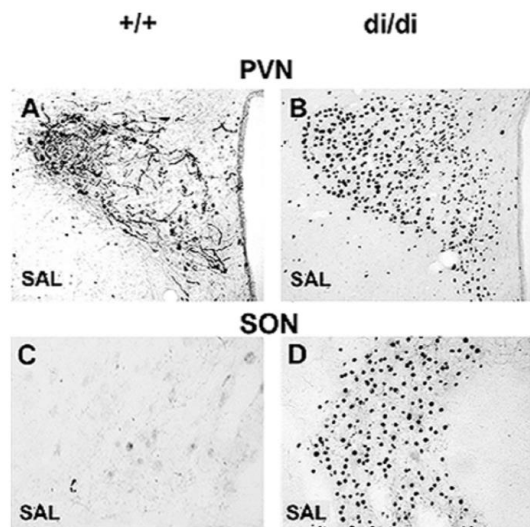
29. ábra Szoptató Brattleboro patkányok szűz kontroll állatokhoz hasonlítva. (n=7 (A), n=11-18 (B), n=9-10 (C)) *p<0,05, **p<0,01 vs szűz, #p<0,05, ##p<0,01 vs di/+ (Fodor és mtsai, 2013)

5.1.2.1. Agyi aktivitási mintázat az anyákban: c-Fos

Az *mPVN* nyugalomban mért c-Fos aktivitásában a *di/di* patkányokban szignifikánsan magasabb szinteket észleltünk, mint a kontroll, *+/+*-os anyákban (30. ábra A, genotípus: $p<0,01$). Talán éppen ezért 15 perc FST stressz hatására csak a kontroll állatokban volt szignifikáns az aktivitás emelkedés mértéke (stressz: $p<0,01$), bár a két genotípus stressz utáni c-Fos aktivitása között nem találtunk különbséget.

A *dpPVN* bazális c-Fos aktivitására a genotípus csak marginálisan hatott (30. ábra B, genotípus: $p=0,07$). Stressz hatására szignifikáns emelkedést lehetett kimutatni (stressz: $p<0,01$). Bár a genotípusok közt nem volt szignifikáns különbség a stressz okozta emelkedésekben, de mégis elmondhatjuk, hogy a kontroll állatokban harmincszoros, míg a *di/di* csoportnál csak kilencszeres aktivitás emelkedés következett be FST hatására.

Az *mpPVN* bazális c-Fos aktivitása a *di/di* állatok esetén szignifikánsan magasabb volt a kontroll, *+/+* anyákhoz képest (30. ábra C, genotípus: $p<0,05$), viszont ez a csoport kevésbé reagált a stresszre (négyyszeres vs. tizennégyyszeres emelkedés). Ezt mutatta az is, hogy ugyan az általános stressz-hatás jelentősnek bizonyult (stressz: $p<0,01$), de a stressz és genotípus hatásának interakciója marginális szignifikanciát mutatott (genotípus és stressz interakció: $p=0,055$).



30. ábra Szoptató Brattleboro patkányok c-Fos aktivitása a PVN-ben. A magasabb oszlopok 15 perc kényszerített úszás után mért értékek. mPVN: magnocelluláris, dpPVN: dorzális parvocelluláris, mpPVN: mediális parvocelluláris ($n=5-9$) ** $p<0,01$ vs kontroll, nem stresszelt, # $p<0,05$, ## $p<0,01$ vs *di/+* (Fodor és mtsai, 2012)

A nyugalomban mért magasabb c-Fos aktivitás jellemző a hím AVP-hiányos állatokra is (31. ábra).

31. ábra Hím Brattleboro patkányok c-Fos immuncitokémiai festése. Reprezentatív metszetek. (Bundzikova és mtsai, 2007)

5.2. Akut stressz

5.2.1. Különféle akut stresszorok alkalmazása hím Brattleboro állatokban

	Stressz	Max. ACTH	ACTH di/di vs di/+	Max. kortikoszteron	Kortikoszteron di/di vs di/+
1	Szociális elkerülés	110,4±18	∅	339,5±76	∅
2	NMDA kezelés	339,7±48	∅	870,7±77	∅
3	Lábsokk doboz	360,2±51	∅	979,4±67	∅
4	Lábsokk	575,4±64	∅	961,1±76	∅
5	Éter stressz	1027,5±75	∅	721,1±94	∅
6	Újdonság	79,3±16	↓	596,6±102	∅
7	EPM	153,4±18	↓	534,7±36	∅
8	WIN 55,212-2 (CB1 agonista)	245,0±45	↓	1081,8±144	∅
9	LPS	295,2±106	(↓)	962,8±201	∅
10	Kainát kezelés	384,6±49	(↓)	1008,2±82	∅
11	Hipertóniás só	443,3±34	(↓)	977,9±80	∅
12	FST	602,3±45	(↓)	1943,9±152	∅
13	Hipoglikémia	802,9±45	↓	2622,5±232	∅
14	Anafilaktoid reakció	824,3±84	↓	1073,8±91	∅
15	Ulcerogén hideg stressz	887,1±53	(↓)	1701,8±221	∅
16	Térfogati stressz	146,3±25	↓	954,5±165	(↓)
17	Morfin kezelés	276,0±38	↓	1144,9±113	↓
18	Szociális kudarc	464,9±85	↓	918,0±114	↓
19	Mozgáskorlátozás	544,4±55	↓	1162,1±64	↓

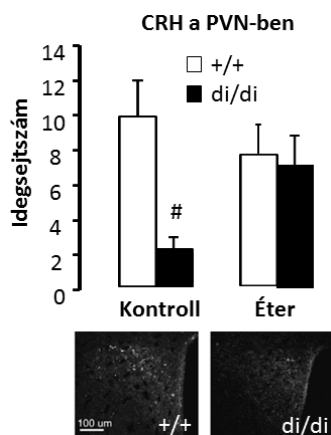
6. táblázat Különféle akut stresszorok csoportosítása az ACTH és kortikoszteron válasz alapján

Kísérleteink során különféle stresszorok hatására létrejövő ACTH és kortikoszteron válaszokat vizsgáltuk meg felnőtt hím állatokban. A 6. táblázatban összefoglaltuk a maximális ACTH és kortikoszteron értékeket és a stresszorokat 3 kategóriába osztottuk (a csoporton belül a maximális ACTH emelkedés alapján emelkedő sorrendben rendezve):

- (1) az AVP-hiány nem hatott sem az ACTH, sem a kortikoszteron emelkedésekre;
- (2) az AVP-hiányában alacsonyabb ACTH emelkedés mellett változatlan kortikoszteron szekréció jött létre;
- (3) a di/di állatokban mind az ACTH, mind a kortikoszteron szekréció alacsonyabb volt.

5.2.2. CRH immunhisztokémiai vizsgálata

32. ábra Hím Brattleboro patkányok PVN-jében a CRH kimutatása. Alul stresszeletlen állatok reprezentatív mintái. (n=5) #p<0,05 vs +/+ (Sterrenburg és mtsai, 2003)



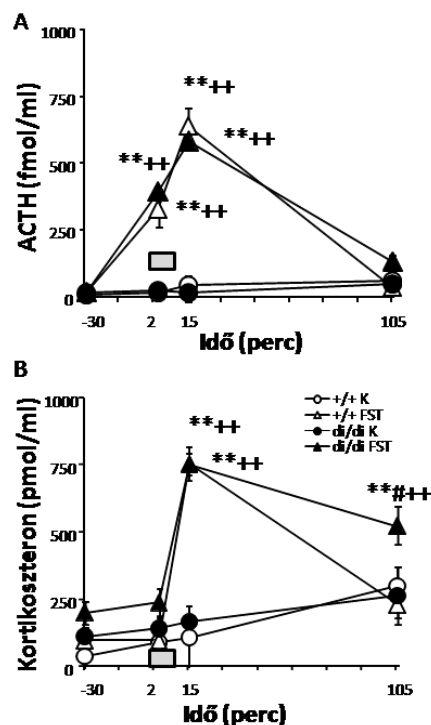
A CRH immunpozitív sejtek száma a PVN-ben nyugalmi állapotban sokkal alacsonyabb volt az AVP-hiányos állatokban, mint a kontroll társaikban (32. ábra, genotípus hatás: $p<0,05$). Az éter stresszor alkalmazása nem befolyásolta a CRH pozitív sejtek számát a +/+ állatokban, de eltüntette a genotípusok közötti különbséget.

5.2.3. Mikrodialízis a PVN-ben

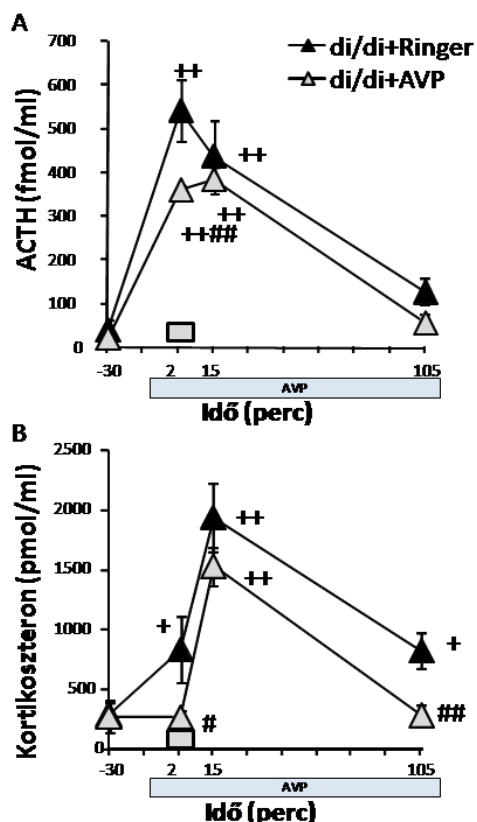
FST stressz hatására mindkét genotípusban megfigyelhető volt az ACTH és kortikoszteron szintek megemelkedése (33. ábra; stressz és idő valamint interakciójuk: $p<0,01$). ACTH esetében már a második vérminta (2 perccel az FST kezdete után) ACTH tartalma magasabb volt, és a harmadik vérvételre az ACTH szintje tovább emelkedett, de a genotípusnak nem volt az emelkedésre hatása (A). Az FST kezdete után 105 perccel a hormon szintje alapállapotba tért vissza.

A kortikoszteron esetében 2 perccel az FST kezdete után nem, csak 15 perc múlva volt emelkedett a hormonszint. A 105 perces minta hormontartalma már csökkent a kontroll állatokban, de nem az AVP-hiányosokban (genotípus: $p=0,01$).

Azon állatokhoz képest, amelyek csak Ringer oldatot kaptak a PVN-be (AVP vivőanyaga, az intracerebroventrikuláris folyadék összetételének megfelelő oldat) az AVP kezelés jelentősen csökkentette az FST hatására kialakuló ACTH és kortikoszteron szint emelkedéseket (34. ábra; kezelés és idő: $p=0,01$).



33. ábra Hím Brattleboro patkányok vérének ACTH (A) és kortikoszteron (B) koncentrációja 10 perc kényszerített úszás (szürke négyzet) hatására. K: kontroll, nem stresszelt, FST: kényszerített úszás 0-10 perc között (n=5-8) **p<0,01 vs K, #p<0,05 vs +/+, ++p<0,01 vs -30 perc (Zelena és mtsai, 2009)



34. ábra Hím Brattleboro patkányok vérének ACTH (A) és kortikoszteron (B) koncentrációja 10 perc kényszerített úszás (szürke négyzet) hatására folyamatos, PVN-be történt AVP retrodialízis (szürke téglalap) alatt. (n=5-7) #p<0,05, ##p<0,01 vs +/+, +p<0,05, ++p<0,01 vs -30 perc (Zelena és mtsai, 2009)

Specifikusan az AVP kezelés normalizálta a 105. percben emelkedett kortikoszteron szinteket a di/di állatokban (B).

5.2.4. Oxitocin szintek az SON-ben

Az immunhisztokémiai festés során erősebb festődést találtunk az SON területén OT-ra az AVP-hiányos állatokban, mint a kontroll, +/+ állatokban (35. ábra A-C, genotípus: p<0,05).

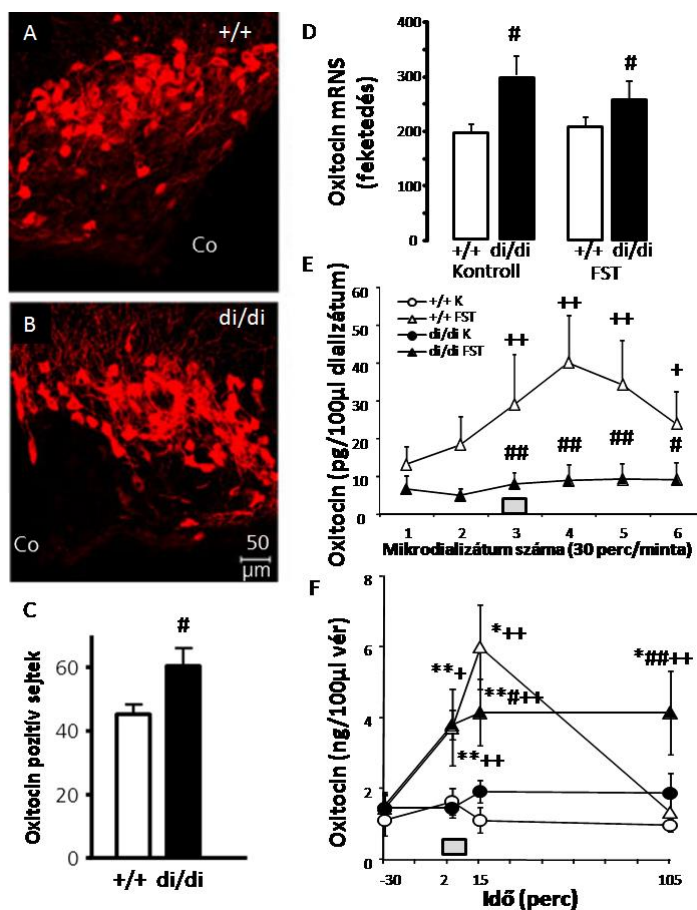
Ehhez hasonlóan az in situ hibridizáció az SON területén szignifikánsan magasabb OT mRNA szinteket jelzett a di/di állatokban (35. ábra D, genotípus: p<0,05).

A 10 perces úszás nem befolyásolta az SON OT mRNA

értékeit, és nem változtatta meg a genotípus hatását sem (nincs sem stressz hatás, sem stressz és genotípus interakció).

Az AVP-hiányos állatok magasabb OT fehérje és mRNA szintjei ellenére a mikrodialízisban mérhető, az FST során az SON extracelluláris terébe ürülő OT szintje bennük

35. ábra Hím Brattleboro patkányok oxitocin szintjei sz SON-ben (A-E) és a plazmában (F). (A és B) reprezentatív immuncitokémiai képek, (C) az immuncitokémia számszerűsített adatai. (D) in situ hibridizációs adatok nyugalomban és 10 perces kényszerített úszás (FST) után. (E) mikrodialízis minták OT tartalma (30 perc/minta) FST (szürke négyzet) hatására. (F) FST hatására megemelkedő OT vérszintek. Co: chiasma opticum, látóideg kereszteződés (n=5-7) *p<0,05, **p<0,01 vs kontroll, stresszetenlen; #p<0,05, ##p<0,01 vs +/+, +p<0,05, ++p<0,01 vs első minta (Zelena és mtsai, 2009)



egyáltalán nem változott, a +/+ állatokban mérhető szignifikáns emelkedések ellenére (35. ábra E, stressz, valamint genotípussal való interakciója $p<0,01$).

A vérplazmában mérhető OT szintje FST hatására szignifikánsan megemelkedett (35. ábra F, stressz és idő: $p<0,01$). Ez az emelkedés már 2 perccel a stressz kezdete után mérhető volt, 15 percre tovább fokozódott, de 105 perccel a stresszor megkezdése után már normalizálódott a +/+ állatokban. A plazma kortikoszteron szintekhez hasonlóan (33. ábra B) a di/di állatok OT szintjei sem normalizálódtak a 105. percben (stressz, genotípus és idő interakciója: $p<0,01$).

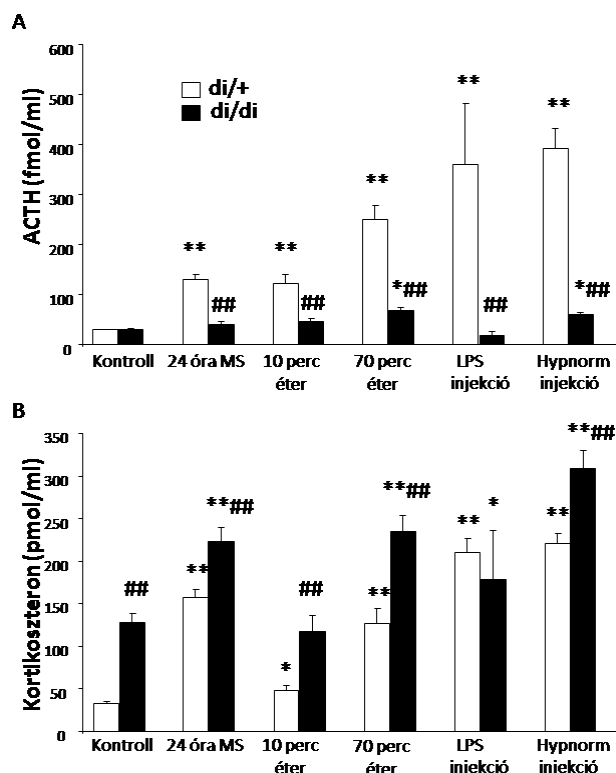
5.3. Perinatális stressz

5.3.1. Akut stresszorok

5.3.1.1. Akut stressz 10 napos Brattleboro patkányokban

A különféle stresszorok eltérő mértékben ugyan, de mindannyian emelték a 10 napos állatok plazma ACTH (36. ábra A, stressz: $p<0,01$) és kortikoszteron (36. ábra B, stressz: $p<0,01$) szintjeit.

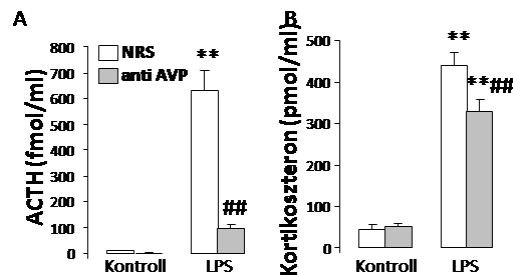
Az AVP-hiány praktikusán kivédte az ACTH szint emelkedéseket (az 5 vizsgált esetben 2-nél (70 perc éter stressz és Hypnorm injekció) volt csak kismértékű emelkedés a di/di állatban a kontroll, nem stresszelt értékekhez képest) (genotípus és stresszel való interakciója: $p<0,01$). Ezzel ellenében a di/di állatok kortikoszteron szintjei már alap, stresszeten állapotban is magasabbak voltak a di/+ testvéreikhez képest és stressz hatására is magasabb emelkedéseket mutattak (genotípus hatása: $p<0,01$).



36. ábra 10 napos Brattleboro patkányok akut stressz-reaktivitása. MS: anyai elválasztás, maternal separation; LPS: lipopoliszacharid injekció (n=14-48) * $p<0,05$, ** $p<0,01$ vs kontroll, stresszeten; # $p<0,05$, ## $p<0,01$ vs di/+ (Makara és mtsai, 2012)

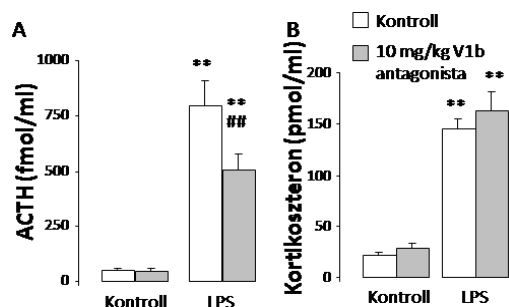
5.3.1.2. Immunneutralizálás 10 napos állatban

Az előző pontban bemutatott adatokkal összhangban az LPS injekció a 10 napos állatban szignifikánsan emelte mind az ACTH (37. ábra A, stresszor: $p<0,01$), mind a kortikoszteron plazma szinteket (37. ábra B, stressz: $p<0,01$). Ebben a modellben a 15 perccel korábban adott AVP antisavó szignifikánsan csökkentette mindkét hormon stressz-okozta emelkedéseit (szérum és stresszel való interakciója: $p<0,01$).



37. ábra 10 napos $+/+$ állatok immunneutralizálása. NRS: normál nyúlszérum, normal rabbit serum; LPS: lipopoliszacharid injekció ($n=13-14$)
** $p<0,01$ vs kontroll, stresszetenlen;
$p<0,01$ vs $di/+$ (Makara és mtsai, 2012)

5.3.1.3. V1b antagonisták kezelése 10 napos állatban



38. ábra 10 napos $+/+$ állatok V1b kezelése. LSP: lipopoliszacharid injekció ($n=13-16$)
** $p<0,01$ vs kontroll, stresszetenlen;
$p<0,01$ vs $di/+$ (Zelena és mtsai, 2011)

sem stresszel értékek esetén) nem befolyásolta.

Az előző kísérletekkel teljesen összhangban az LPS injekció ezekben a $+/+$ -os állatokban is ACTH (38. ábra A, stressz: $p<0,01$) és kortikoszteron szint (38. ábra B, stressz: $p<0,01$) emelkedéshez vezetett 2 órával a $100\mu\text{g}/2\text{ml}/\text{kg}$ oldat ip injekciója után. A 15 perccel korábban adott V1b receptor antagonisták (SSR149415) szignifikánsan csökkentette a plazma ACTH szintjeit (V1b antagonisták és stressz interakciója: $p<0,01$), de a plazma kortikoszteron szinteket egyáltalán (sem alap, sem stresszel értékek esetén) nem befolyásolta.

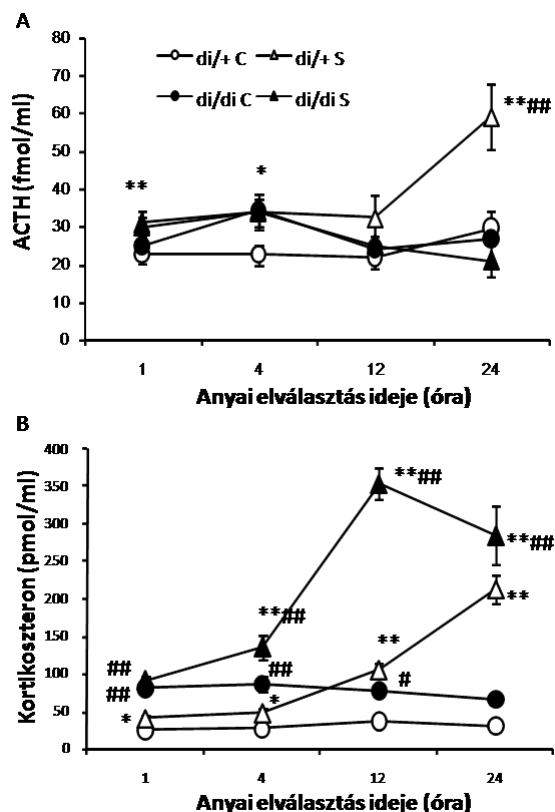
5.3.2. ACTH és kortikoszteron disszociáció

A 6. táblázatban bemutatott felnőtt állatok esetén is, de még szembetűnőbben a kispatkányokban a kortikoszteron szintek nem követték az ACTH változásokat (vesd össze az AVP-hiányos állatokban praktikusán hiányzó stressz okozta ACTH emelkedést, az ugyanezen állatokban mérhető kontrollokénál magasabb kortikoszteron szintekkel, 36. ábra). Először megpróbáltuk kizárni a technikai problémákból eredő esetleges látszólagos különbségeket. A bemutatott vizsgálatokban 10 napos kispatkányokat használtunk.

5.3.2.1. Az ACTH és kortikoszteron szintek időbeli lefutása

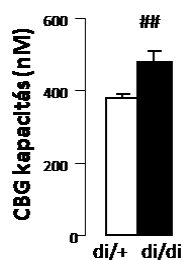
A $di/+$ genotípusú kölykök esetében mindegyik időtartamú anyai elválasztás (MS) ha csak kis mértékben is, de szignifikánsan emelte az ACTH szinteket (39. ábra A, MS: $p<0,01$), a maximális hatást, megközelítőleg kétszeres emelkedést a 24 órás szeparáció váltotta ki (idő: $p<0,05$). Ezzel ellentétben az AVP hiányos állatokban nem volt kimutatható ACTH szint emelkedés, sőt a 24 órás szeparáció hatására csökkenést detektáltunk az anyjuk alatt tartott kontroll testvérekben mérhető értékhez képest (MS és genotípus interakció: $p<0,01$).

A kortikoszteron szintek esetén az elválasztás növekvő időtartama egyre nagyobb és nagyobb hormon-válaszokat váltott ki (39. ábra B, idő: $p<0,01$). A legmagasabb emelkedés a 24 órás elválasztás esetén volt megfigyelhető. Az AVP hiányos állatoknak magasabb alapértékei voltak és bennük az 1 órás szeparáció még nem váltott ki szignifikáns emelkedést. A további időpontokban az emelkedés mértéke viszont nemcsak a kontroll, anyjuk alatt maradó kispatkányokhoz képest, hanem a $di/+$ -os állatokban megfigyelhető szintekhez képest is magasabb volt (genotípus valamint idővel és MS-el való interakciója: $p<0,01$).



39. ábra Különböző időtartamú anyai elválasztás (MD) ($n=9-32$) * $p<0,05$, ** $p<0,01$ vs kontroll, stresszelen; # $p<0,05$, ## $p<0,01$ vs $di/+$ (Zelena és mtsai, 2008)

5.3.2.2. Kortikoszteron kötő kapacitás

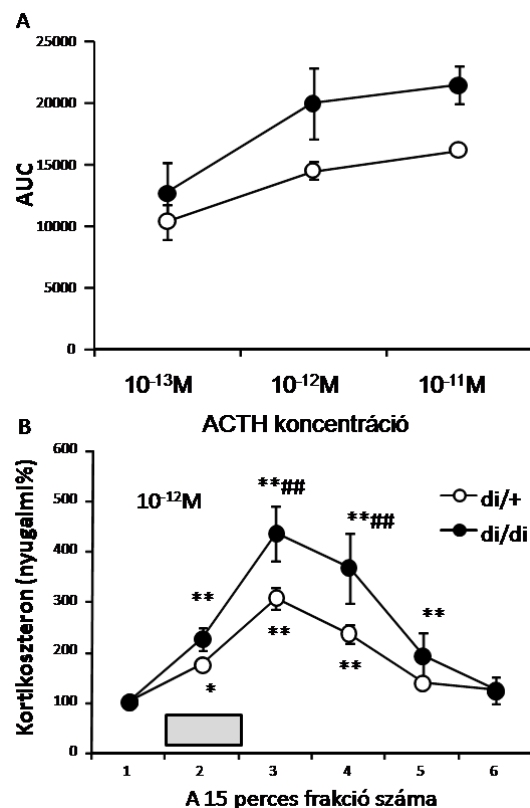


A 10 napos állatokban az AVP-hiány hatására fokozott CBG szintek alakultak ki (40. ábra, $p<0,01$).

40. ábra Kortikoszteron kötő kapacitás (CBG) ($n=7$) ## $p<0,01$ vs $di/+$ (Zelena és mtsai, 2011)

5.3.2.3. A mellékvese ACTH érzékenység in vitro mérése

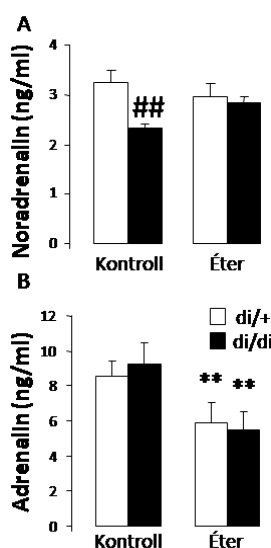
A 10 napos állatok mellékvesei dóziszfüggő módon érzékenyek voltak ACTH hatására (41. ábra A, kezelés: $p < 0,01$). A kortikoszteron emelkedés megjelent már abban a 15 perces frakcióban is, amikor adtuk az ACTH-t, de a csúcsa késleltetve a következő két frakcióban jelentkezett (41. ábra B, idő: $p < 0,01$). Az AVP-hiányos állatok mellékveséje ugyanakkora ACTH mennyiség hatására több kortikoszteron elválasztással reagált (genotípus: $p < 0,01$), de ez egyik dózis esetén sem jelentett a páros összehasonlítások során szignifikáns eltérést az AUC-ben. Ugyanakkor a 10^{-12} M ACTH alkalmazása esetén a 3. és 4. (kezelés utáni) frakciók is szignifikáns emelkedést mutattak a di/di állatok kortikoszteron szekréciójában.



41. ábra 10 napos Brattleboro patkányok mellékveséjének ACTH érzékenysége. AUC: görbealatti terület, area under the curve. (B) négyzet jelöli a hozzáadott ACTH időtartamát. (n=8-15) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs 1-es frakció; ### $p < 0,01$ vs di/+ (Zelena és mtsai, 2008)

5.3.2.4. Katekolaminok

5.3.2.4.1. Hormonszintek mérése

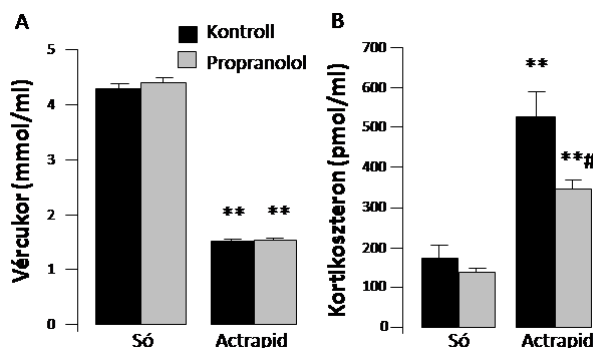


A 10 napos kispatkányok plazmájában mérhető noradrenalin szinteket az ismételt éter stressz csak marginálisan emelte (42. ábra A, stressz: $p = 0,08$). Viszont az AVP-hiányos állatokban alacsonyabb értékeket találtunk (genotípus: $p = 0,01$), és bennük az éter stressz hatására megemelkedett a noradrenalin szint (stresszor és genotípus interakció: $p = 0,05$).

Az adrenalin szintekre viszont csak a stressz volt hatással (42. ábra B, stressz: $p < 0,01$). Meglepő módon csökkentette a hormon plazmaszintjét.

42. ábra 10 napos Brattleboro patkányok plazmájának katekolamin tartalma nyugalomban és ismételt éter stressz hatására (2 x 3 perc 1 óra eltéréssel, 70 percben mintavétel) (n=9-10) ** $p < 0,01$ vs stresszetenlen kontroll; ### $p < 0,01$ vs di/+ (Zelena és mtsai, 2008)

5.3.2.4.2. β adrenerg antagonist

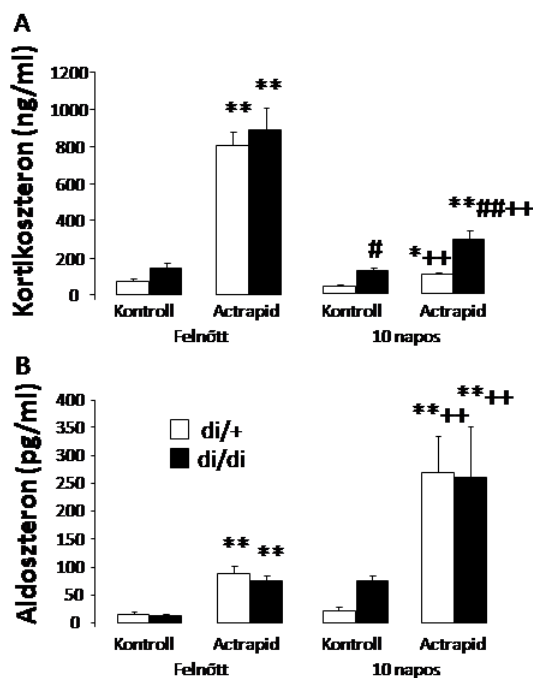


43. ábra 10 napos di/di Brattleboro patkányok hipoglikémiás stressz (Actrapid) hatására kialakuló vércukor és kortikoszteron plazmaszintjei β -adrenerg antagonist (propranolol) előkezelés után (n=13-16) **p<0,01 vs stresszeletlen kontroll; ##p<0,01 vs propranolol kontroll (Makara és mtsai, 2012)

A kísérlethez csak AVP-hiányos állatokat használtunk. Actrapid (gyors hatású inzulin) hatására mind a kontroll, mind a β adrenerg antagonist előkezelést kapott di/di állatok vércukorszintje lecsökkent (43. ábra A, stresszor: p<0,01). A Propranolol előkezelést kapott perinatális állatok kortikoszteron növekedése alacsonyabb volt a kontroll, sóval kezelt társaikhoz képest (43. ábra B, stressz és Propranolol: p<0,01, interakciójuk: p=0.06).

5.3.2.5. Mineralokortikoidok

5.3.2.5.1. Hipoglikémia felnőtt és 10 napos Brattleboro patkányban

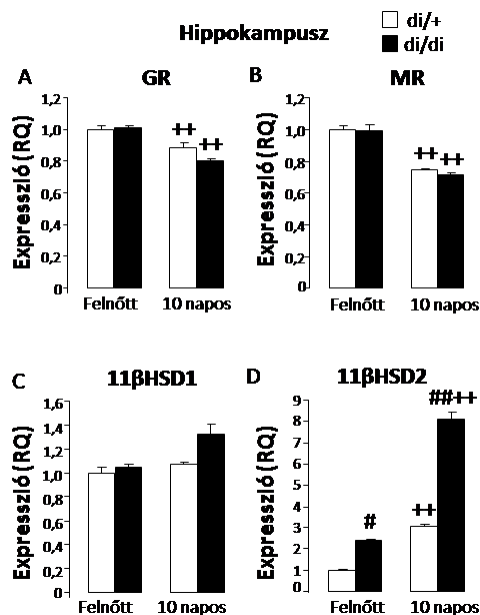


44. ábra Felnőtt és 10 napos Brattleboro patkányok hormonszintjei hipoglikémiás stresszor (Actrapid) hatására (n=10) *p<0,05, **p<0,01 vs stresszeletlen kontroll; #p<0,05, ##p<0,01 vs di/+, ++p<0,01 vs felnőtt (vonatkozó adatok Wistar patkányokon: Varga és mtsai 2013)

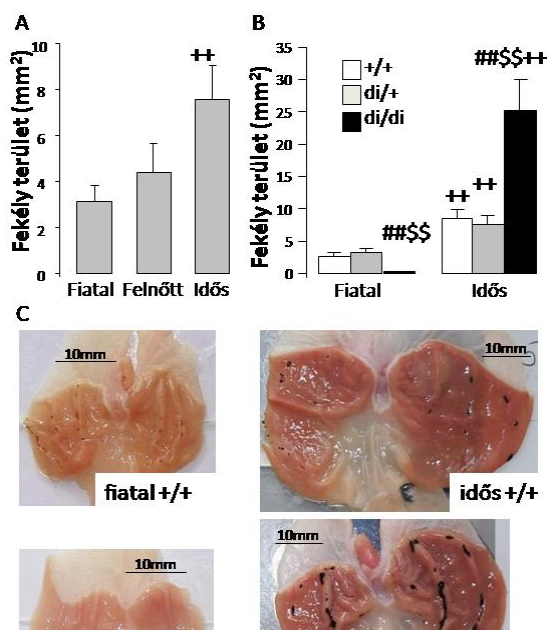
5.3.2.5.2. PCR mérések felnőtt és 10 napos Brattleboro patkányokban

A hippocampusban mérhető mRNS szintek tekintetében jelentős korhatást találtunk a GR és MR szintekben a 10 napos állatok alacsonyabb szintjeivel (45. ábra A és B, kor: $p<0,01$). A 11β HSD2, kortikoszteron lebontó enzim szintje pedig szignifikánsan magasabb volt a kispatkányokban, mint a felnőttekben (45. ábra D, kor: $p<0,01$), míg az aktiváló 11β HSD1 enzim szintje csak marginális korhatást mutatott (45. ábra C, kor: $p=0,07$). A genotípus viszont csak egyetlen esetben, a 11β HSD2-nél volt hatással a mért paraméterekre. Méghozzá az AVP-hiányos állatok magasabb 11β HSD2 mRNS szintekkel rendelkeztek (genotípus: $p<0,01$), és a 10 napos állatokban ez a különbség még kifejezettebb volt (genotípus és kor interakció: $p<0,01$).

45. ábra Felnőtt és 10 napos Brattleboro patkányok mRNS szintjei. RQ: relatív mennyiség, quantity ($n=5$) * $\#p<0,05$, $\#\#p<0,01$ vs di/+, $++p<0,01$ vs felnőtt (vonatkozó adatok Wistar patkányokon: Varga és mtsai 2013)



5.4. Gyomorfekély Brattleboro patkányban



46. ábra Indometacin indukálta gyomorfekély különböző korú Brattleboro patkányokban C. reprezentatív képek (n=10-13) ^{##}p<0,01 vs +/+; ^{\$\$\$}p<0,01 vs di/+, ⁺⁺p<0,01 vs fiatal (Zelena és mtsai, 2010)

nyomonkövetni a gyógyulást is, azt tapasztaltuk, hogy a gyomorfekély gyógyulásával párhuzamosan az állatok belében fekélyek jelentek meg, amik akár az állat halálához is vezethettek [384]. Meglepő módon ebben az esetben a fiatal di/di állatoknál az AVP-hiány fokozta a mortalitást (4-ből 8 di/di állat halt meg 3 napon belül, míg a +/+ állatokból 1 a 10-ből), míg az idős állatoknál az AVP-hiány védő hatású volt (+/+ állatoknál 6-ból 3 állat elpusztult 3 napon belül, míg mind a 6 di/di-s életben maradt [243]).

5.5. Szorongás- és depresszió-szerű tünetek

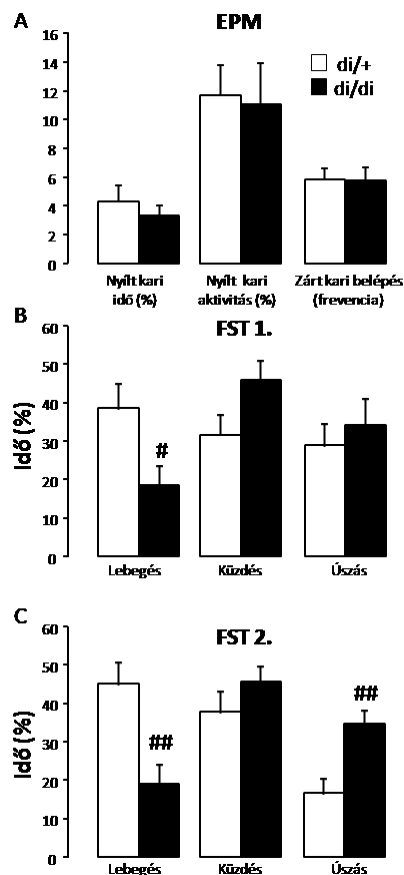
5.5.1. Felnőtt hím Brattleboro patkányok

Az 5 perc EPM teszt alatt nem találtunk különbséget a két genotípus között sem a nyílt karban töltött idő, sem a

Fiatal és felnőtt di/+ állatokban kb. ugyanakkora lézió alakult ki indometacin beadás hatására, míg az idős állatok fokozott fekélyképződést mutattak (46. ábra A, kor: p<0,05).

Az AVP hatását tekintve a fiatal állatokban az AVP-hiány csökkentette az erózió méretét, míg az idős patkányokban fokozta (46. ábra B,C, genotípus és korral való interakciója: p<0,01). A di/+ állatok megegyező értékeket mutattak a +/+ csoporttal.

Amikor a kísérletet nem fejeztük be 4 órával az indometacin beadása után (gyomorfekély kialakulása), hanem megpróbáltuk



47. ábra Szorongás- és depresszió-szerű viselkedés hím Brattleboro patkányokban. (n=10-12) [#]p<0,05, ^{##}p<0,01 vs di/+ (Mlynarik és mtsai, 2007)

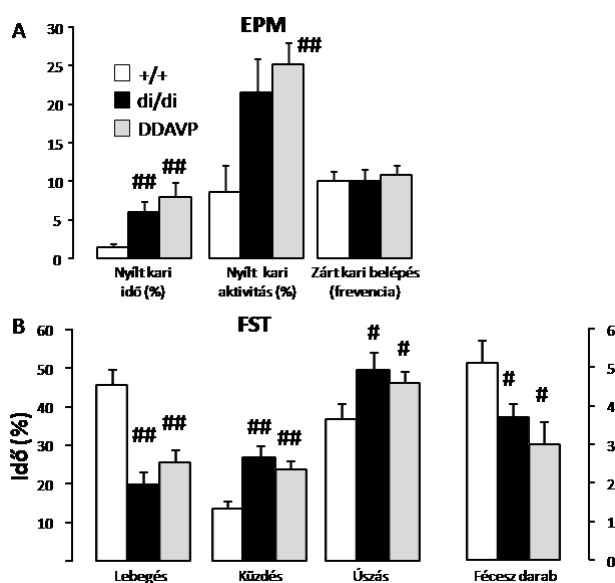
mozgékonyaságtól független nyílt kari aktivitás (számítást lásd: 4.6.1.1.) vonatkozásában (47. ábra A). Várakozásunkkal ellentétben nem volt különbség a genotípusok közt a mozgékonyaság paraméterének tekintett zárt kari belépések számában sem.

A depresszió-szerű viselkedés (lebegés) az úszás teszt mindkét napja alatt megfigyelhető volt, és csak az úszás mennyisége csökkent szignifikánsan a két nap között (47. ábra B,C; nap: $p<0,05$). Mindkét nap a fő magatartási paraméter, a lebegés szignifikánsan kevesebb ideig fordult elő az AVP-hiányos állatokban (genotípus: $p<0,05$ (1. nap) illetve $p<0,01$ (2. nap)). A további paraméterek közül csak a második napon láttunk fokozott úszási aktivitást a di/di állatokban. A búvárkodás alig fordult elő, ezért ezt nem ábrázoltuk.

5.5.2. Perifériás AVP hatása

Amikor az AVP-hiányos állatok szorongás-szerű magatartását hasonlítottuk össze $+/+$ társaikkal szignifikáns különbségeket találtunk a csoportok között (48. ábra A, nyílt kari idő: $p<0,01$ és aktivitás: $p<0,05$). Pontosabban a di/di állatok több időt töltöttek a nyílt karban, és ezt a hatást a perifériás AVP DDAVP-vel történő pótlása sem szüntette meg. Valamint sem a genotípus sem a kezelés nem befolyásolta a mozgékonyaság (zárt kari belépés) paraméterét.

Hasonlóan a 10 perces FST teszt során is szignifikáns csoporthatásokat tapasztaltunk (48. ábra B, lebegés és küzdés: $p<0,01$ és fécész: $p<0,05$), csak az úszás esetén volt a hatás marginális ($p=0,058$). Ebben az esetben is csökkent a passzívan, lebegéssel töltött idő a di/di állatokban és nőtt a küzdés és úszás időtartama. Érdekességgént a vízben megszámolható fécészbogyók száma követte a lebegés előfordulását. A DDAVP kezelés egyik vizsgált paramétert sem normalizálta, azaz a DDAVP kezelt állatok pont úgy viselkedtek, mint a kezeletlen di/di állatok.

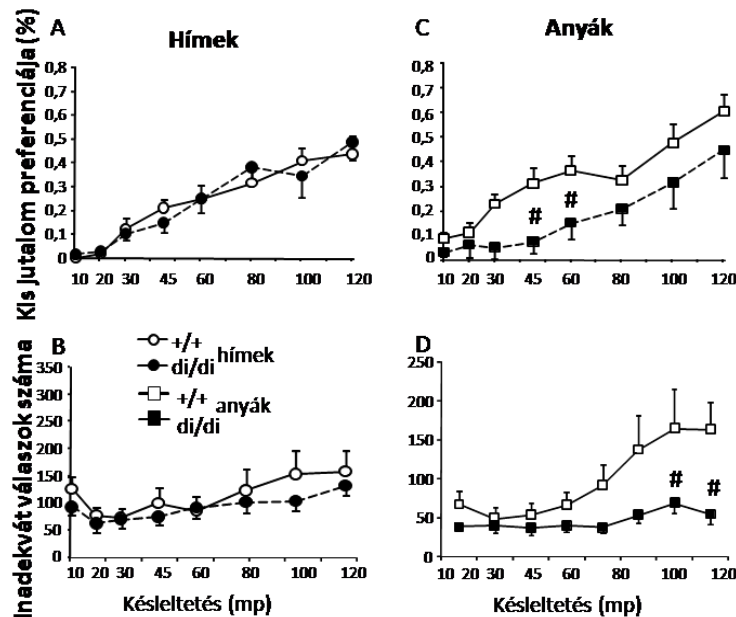


48. ábra Perifériás AVP pótlás (DDAVP ozmótikus minipumbában) hatása a magatartásra. (n=10) # $p<0,05$, ## $p<0,01$ vs $+/+$ (Balázsfi és mtsai, 2014)

5.6. Impulzivitás

A tanulási fázis alatt a nagy jutalom preferenciája szignifikánsan nőtt minden állatnak ($p < 0,01$), de nem találtunk különbséget a két genotípus között sem a hímek sem az anyák esetében (nem közölt adat).

A teszt fázis napjai folyamán az állatok kis jutalom preferenciája nőtt mindkét vizsgált (hím és anya) csoportban (49. ábra A,C, késleltetés: $p < 0,01$). A hímek esetén nem találtunk különbséget a genotípusok között, míg az anyák esetén az AVP-hiányos laktáló anyák kis jutalom preferenciája alacsonyabb volt, mint az AVP-t expresszálóknak (genotípus: $p < 0,05$), vagyis a döntési impulzivitás szintje alacsonyabbnak mutatkozott. Az inadekvát válaszok száma a teszt fázis folyamán a hímekben nagyjából állandó maradt (49. ábra B), míg az anyákban a késleltetés növelésével szignifikánsan növekedett (49. ábra D, késleltetés: $p < 0,01$). Ezen paraméter, vagyis a motoros impulzivitás esetén a genotípus hatása az anyákban ugyan csak marginálisan volt szignifikáns ($p = 0,07$), de szignifikáns interakció mutatkozott a genotípus és a késleltetés között ($p < 0,01$). Azaz az inadekvát válaszok számának növekedése nagyobb volt a kontroll állatokban, mint az AVP-hiányos egyedekben.



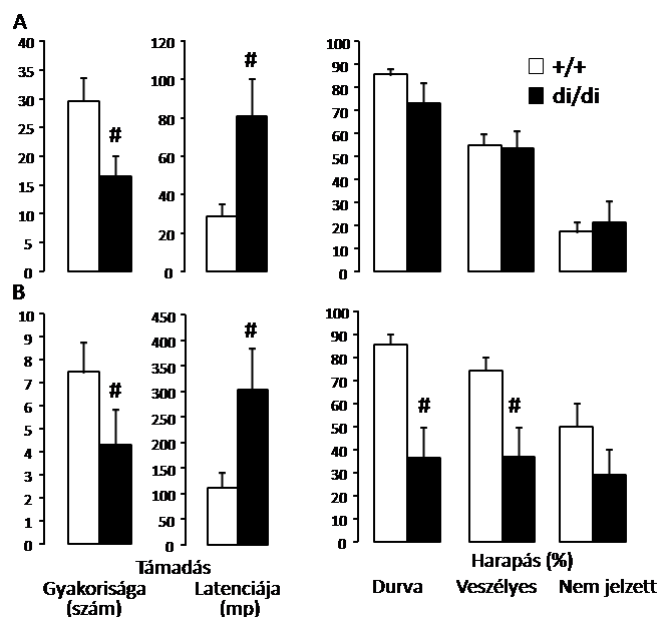
49. ábra Impulzivitás a késleltetett operáns kondicionálás tesztben. (n=10) # $p < 0,05$ vs +/+ (Aliczki és mtsai, 2014)

5.7. Agresszió

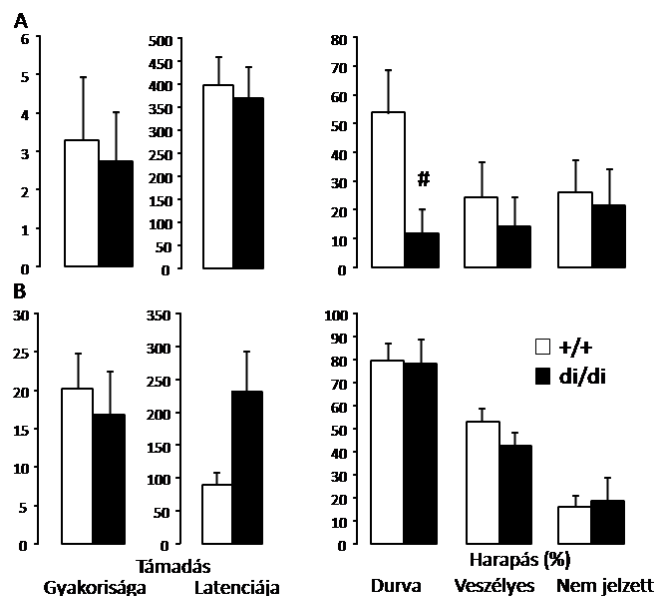
A *felnőtt hím* Brattleboro állatok kevésbé voltak agresszívak (4-5 harapás/20 perc) (50. ábra A). Mégis elmondható, hogy az AVP-hiánya csökkentette bennük a durva harapások számát ($p<0,05$).

A *reprodukzív* tapasztalattal rendelkező állatok sokkal agresszívebbek voltak (átlagosan 20-at haraptak a 20 perc alatt) (50. ábra B). A két genotípus között viszont nem találtunk különbséget sem az agresszió mennyiségi, sem minőségi változóit tekintve.

A *szoptató anyákban* a harapások száma a laktáció elején (5-6. nap) extrém magas volt (30 harapás/10 perc), ennek megfelelően a latencia pedig alacsony (51. ábra A, idő: $p<0,01$). Az arány azonban a 18-19. napra megfordult (7-8 harapás/10 perc) (51. ábra B). AVP hiányában az anyák szignifikánsan kevesebbet haraptak mindkét időpontban, mint a másik csoport tagjai



51. ábra Agresszió nőstény Brattleboro anyákban (A) 5-6 és (B) 18-19 nappal a szülés után. (n=10-13) # $p<0,05$ vs +/+ (Fodor és mtsai, 2014)



50. ábra Agresszió hím (A) felnőtt (B) reprodukzív tapasztalattal rendelkező Brattleboro állatokban. (n=6-10) # $p<0,05$ vs +/+ (Fodor és mtsai, 2014)

(genotípus: $p<0,05$), interakció nem mutatkozott a két hatás között. A harapások latenciája ezzel fordított arányban változott (idő: $p<0,01$; genotípus: $p<0,05$).

A harapások minőségi tanulmányozása során interakciót találtunk a genotípus és az idő között a durva harapások és a sérülékeny területekre történő harapások részarányát tekintve ($p<0,05$). Mindkét paraméternél az AVP-hiányos anyák csak a későbbi időpontban mutattak csökkenést az AVP-vel rendelkezőkhöz képest. A nem jelzett harapásokra csak az idő volt szignifikáns hatással ($p<0,05$).

6. Megbeszélés

6.1. Krónikus stressz

A krónikus stressz alatti szabályozás egyik alapkérdése, hogy milyen folyamatoknak köszönhető a HHM tengely aktivitásának fennmaradása a tartósan magas plazma GC szintek ellenére [22, 24, 385]. Ennek egyik lehetséges magyarázata, hogy ilyen körülmények között emelkedett AVP elválasztás figyelhető meg, ami kevésbé érzékeny a GCfeedback-re [23, 386].

Valóban a HHM tengely hipotalamikus komponensét vizsgálva Ma és munkatársai [387] nem tapasztalták a CRH mRNS szint emelkedést 14R hatására, és például az adjuváns indukálta artritisz modell esetén (mely a szervezetet krónikus gyulladásban, stresszben tartja) a hipotalamusz AVP szintje mind a PVN, mind az SON területén megnőtt, azaz elképzelhető, hogy nem a PVN-ből származó CRH, hanem az SON-ből (és PVN-ből is) származó AVP lehetne ilyenkor a HHM tengely fő szabályozója [388]. Számos kritikus kísérlet hiányzott az elmélet bizonyításához [226], így megpróbáltuk ezt alátámasztani Brattleboro patkányok segítségével.

6.1.1. A vazopresszin szerepe

Az egységesség miatt minden stresszort nagyjából 2 héten keresztül alkalmaztuk.

Mindhárom vizsgált modellben (14R, Mo, DM) kimutathatóak voltak a krónikus stressz klasszikus, szomatikus tünetei: a testsúlycsökkenés, a csecsemőmirigy beolvadása és a mellékvesék súlyának növekedése is. Ezzel párhuzamosan a vérben a kortikoszteron nyugalmi szintje is megemelkedett (26-28. B ábrák), ami a fokozott szintézis egyértelmű jele (a lipid természetű molekula nem tárolódik vezikulákban). A peptid természetű ACTH szintje a vérben nyugalmi körülmények között nem változott krónikus stresszre, ami valószínűleg annak a következménye, hogy ez a molekula tárolódni képes. Így az ACTH szintézis fokozódását a mRNS-ének (a POMC mRNS) az AL-ban történő megemelkedésével lehet leginkább tanulmányozni. És valóban, mindhárom vizsgált modellben magasabb szinteket találtunk a krónikusan stresszelt állatokban a kontrollokhoz viszonyítva (26-28. A ábrák). Sajnos azonban egyik esetben sem tapasztaltunk semmilyen különbséget a genotípusok között. Azaz eredményeink arra utalnak, hogy az AVP HHM tengely aktivitásának fenntartásában betöltött szerepe nem lényeges krónikus stresszfolyamatok során.

Az Mo esetén az AVP-hiányos állatok **nyugalmi** kortikoszteron **szintjei** magasabbak voltak, mint kontroll társaiké. A di/di állatok kisebbek, állandó ivási kényszerük van, így feltehető, hogy „nyugalmi” körülmények között is krónikus stressz állapotban vannak. Ezt alátámasztja a (néha tapasztalható; vö 27. ábra emelkedés és 26, 28. ábra normál szint) magasabb „nyugalmi” kortikoszteron szintjük is. Ennek megfelelően feltehetnénk, hogy bennük további, krónikus stresszre utaló elváltozások nem képesek kifejlődni. De ez akkor lenne probléma, ha a di/di állatokban csökkent stresszreaktivitást látnánk, mert nem lehetnénk biztosak benne, hogy ez tényleg az AVP-hiány hatása-e, vagy csak a di/di állatok fokozott „nyugalmi” HHM tengely aktivitása miatt létrejött csökkent reaktivitás. A krónikus Mo kezeléssel kísérletnél a kontroll állatok is kaptak sorozatos injekciókat, amik befolyásolhatták a mért „nyugalmi” szinteket. Továbbá számos kísérletből származó adatunkat összesítve nem volt szignifikáns különbség a genotípusok között a nyugalmi ACTH és kortikoszteron szintjeik tekintetében (7. táblázat), bár mindig tapasztaltunk egy tendenciát a magasabb kortikoszteron szintekre.

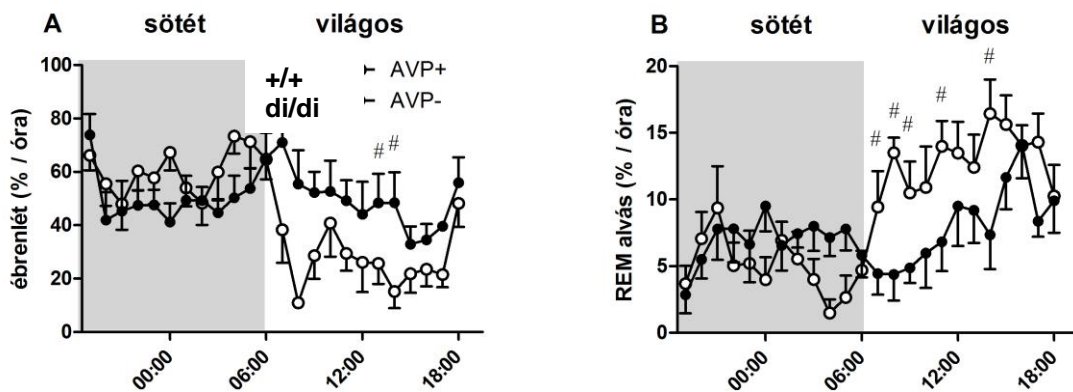
	ACTH (fmol/ml)		Kortikoszteron (pmol/ml)	
	dekapitálás	sorozat vérvétel	dekapitálás	sorozat vérvétel
di/+	23,9±3,0 (136)	70,6±10,5++ (83)	137,4±17,6 (142)	277,4±41,4++ (66)
di/di	21,0±1,5 (135)	82,8±10,7++ (75)	175,2±13,7 (140)	332,7±43,5++ (63)

7. táblázat Nyugalmi hormonszintek. Zárójelben az állatok száma. ++p<0,01 vs dekapitálás (Zelena és mtsai, 2009 1. táblázata alapján)

Vizsgálataink összességében arra utalnak, hogy a nyugalmi ACTH és kortikoszteron hormonszintek fenntartásában nincs szerepe az AVP-nek. Több tanulmány is beszámol arról, hogy az AVP önmagában is képes az ACTH szekrécióját stimulálni [389], ezáltal a kortikoszteron alapszintjének szabályozásában is részt vehetne. Amennyiben ez a hatás érvényesülne, a di/di genotípusú állatokban inkább alacsonyabb, mint magasabb ACTH és kortikoszteron szinteket kellett volna mérnünk. Laulin és munkatársainak [390] eredményei is kérdéssé teszik az AVP nyugalmi stressz-hormon szekréciót fenntartó szerepét, amit saját vizsgálataink [334, 336, 375], valamint diabetes insipidusban szenvedő páciensek eredményei is alátámasztanak [391]. Mind *in vivo*, mind pedig *in vitro* vizsgálatok rámutattak arra is, hogy a

CRH kezelés hatására bekövetkező ACTH elválasztás kisebb mértékű AVP hiányos állatokban [392]. Ezen eredmények alátámasztják, hogy az AVP hatása permisszív, elsősorban a CRH ACTH szekretagóg hatását erősítheti [221, 393, 394].

Más szerzőkkel való ellentmondások magyarázata lehet a nem megfelelő kontrollok használata [327], vagy az anya genotípusának hibás megválasztása [326, 395]. Ahhoz, hogy ezeknek a faktornak a szerepét minimalizáljuk a kísérleteink nagy részében di/+ és di/di genotípusú állatokat használtunk, melyek di/+ genotípusú anyától és di/di genotípusú apától származtak, azaz testvérek voltak. Lehetséges magyarázat az is, hogy az AVP hiánya a cirkadián ritmus eltolódását eredményezi. Ez magyarázhatja a különféle kísérleteinkben kapott eltérő eredményeket is. Az élő szervezetek „endogén órájának” vizsgálata régóta kedvelt témája a neurobiológiának. Ez az „endogén óra” az SCN, ahol nagy mennyiségben találhatóak vazopresszinerg sejtek [396]. Ezek alapján feltételezhető, hogy az AVP hiánya befolyásolhatja az egész SCN működését vagyis a melatonin termelés ritmikussága is esetleg zavart szenved [397]. Valóban, az AVP-hiányos állatok ébrenlét-alvás ciklusai másként alakulnak, mint a kontroll állatokban (52. ábra).



52. ábra Brattleboro patkányok napi ritmusa (Ébredlét és gyors szemmozgásos, REM alvás) A kettős kereszt az AVP+ csoporttól való eltérést (# $p < 0,05$) jelzik. (saját, nem közölt adat)

Bár a di/di állatok ACTH termelésének ritmikussága hasonlóan bizonyult mind di/+ -os kontroll társaikhoz [341], mind más fajokhoz, ugyanakkor a fluktuáció amplitúdója egyes szerzők szerint nagyobb [398].

Mind minden KO állatban, a Brattleborok esetén is felvetődik **kompenzációs mechanizmusok** megjelenésének a lehetősége. Egyik ilyen szabályozó molekula lehet a *CRH*, viszont várakozásunkkal ellentétben a nyugalmi CRH fehérje szint alacsonyabb volt a di/di

állatban (32. ábra). Ezt a jelenséget többféleképpen is értelmezhetjük. Azon korábbi leletünkkel összevetve, amikor emelkedett CRH mRNS szinteket találtunk a PVN-ben [335], arra a következtetésre juthatunk, hogy a fokozott CRH fehérje képződéssel együtt, az AVP hiányában a CRH ürülése is gyorsabb, elképzelhetően a fokozott vízivás ingere által. A perifériás AVP pótlása növeli is a PVN-ban a CRH immunoreaktivitást [399]. Ez a fokozott CRH ürülés is elméletileg hozzájárulhat a Brattleboroban mérhető sokszor normális HHM tengely reaktivitás fenntartásához. Ennek ellentmond azonban, hogy stressz hatására nemhogy további csökkenés,

Neuropeptides colocalized with AVP or OXY in the SON and PVN	AVP	OXY
Agmatine	+++++	+++++
Angiotensin II	+++++	
Apelin	+++++	+++++
Calbindin	+++++	+++++
Calretinin		+++++
CART	+++++	+++++
Corticotropin releasing hormone	+++++	+++++
Galanin	+++++	+++++
Cholecystokinin		+++++
Chromogranin/secretogranin II	+++++	
Dynorphin	+++++	+++++
Endothelin-1	+++++	+++++
Leu-enkephalin	+++++	
Met-enkephalin	+++++	+++++
Ferritin	+++++	
Interleukin-6	+++++	
Kininogen		+++++
T-kininogen	+++++	
Leptin	+++++	+++++
NADPH-diaphorase	+++++	+++++
Nesfatine	+++++	+++++
Neuroendocrine polypeptide 7B2	+++++	+++++
Neurokinin B	+++++	
Neuromedin U	+++++	+++++
Neuropeptide AF/FF	+++++	+++++
Neuropeptide B	+++++	
Neuropeptide Y	+++++	+++++
NO synthase	+++++	+++++
Peptide histidine-isoleucine	+++++	
Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide	+++++	+++++
18 regulated endocrine specific protein		+++++
TAFA 5	+++++	+++++
Thyrotropin releasing hormone	+++++	+++++
Transforming growth factor beta	+++++	
Tyrosine hydroxylase	+++++	
Urocortin	+++++	+++++
Vasoactive intestinal peptide	+++++	

8. táblázat A PVN és SON sejttestjeiben AVP-vel és/vagy OT-val kolokalizációt mutató (+++++) peptidek (Bundzikova és mtsai, 2008)

hanem épp valamifajta emelkedés volt megfigyelhető a di/di állatok CRH szintjeiben. Az éter stresszre a +/+ állatokban is elmarad a CRH szint növekedés. Ehhez hasonló csökkenés volt megfigyelhető immobilizáció hatására is [400], aminek egyik lehetséges magyarázata, hogy a stressz hatására mind a CRH szintézise, mind ürülése megnő. A stressz hatására létrejövő c-Fos emelkedés alátámasztja a fokozott szintézis elméletét. Összességében megállapíthatjuk, hogy sem korábbi [337, 401, 402], sem saját vizsgálatok nem találtak sem fokozott CRH immunoreaktivitást, sem fokozott CRH termelést [403] az AVP-hiányos állatok KPI-jében, azaz az AVP hiányt nem kompenzálja CRH termelődés változás.

Számos más, eddig ismeretlen, vagy ismert, de kevésbé kutatott anyag létezhet, amelyek az AVP hiányos állatokban átvehetik a hiányzó AVP HHM tengely szabályozó szerepét 80. táblázat) [34].

Így tanulmányok mutatnak rá, hogy az atriális nátriuretikus peptid szintje di/di állatokban emelkedett [404], és összefüggést találtak a hipotalamikus hisztaminerg és AVP rendszer között is [405]. A di/di állatok ozmotikus változásaira a *katekolaminok*, elsősorban a dopamin különösen érzékeny lehet [406]. Nem is csoda, ha a szintje megemelkedett az AVP-hiányos felnőtt állatokban [407,

408]. A katekolaminok, többek között a dopamin HHM tengely szabályozó szerepe jól ismert [409].

Éppen ezért nagyon fontos megjegyeznünk, hogy későbbi vizsgálatok során a Brattleboro patkányokban krónikus stresszre kapott negatív eredményeinket megerősítették V1b antagonistá alkalmazásával is [410]. Eredményeinket támogatja továbbá, hogy például Makino és csoportja 14R hatására talált CRH mRNS szint emelkedést a hipotalamuszban [411]. Valamint emberben és kutyában az AVP által okozott ACTH elválasztás érzékeny volt dexametazon gátló hatására [412, 413].

Összességében megállapíthatjuk, hogy az AVP HHM tengelyt szabályozó szerepe patkányokban nyugalomban és 2 hétig alkalmazott krónikus stresszelés során nem kerül előtérbe.

6.1.2. Laktáló anyák

Laktáció során az anyák hipotalamuszában – többek között – átrendeződés figyelhető meg, ami változásokhoz vezet a *HHM tengely* alapaktivitásában is [160]. Laktáló anyák stressztengely alapaktivitása a krónikus stressz állapotnak megfelelő képet mutat: megemelkedik a mellékvese tömegük (29. ábra C), valamint a CRH mRNS szint a PVN-ben (29. ábra A), a POMC mRNS szint az AL-ban, illetve a nyugalmi plazma kortikoszteron szint (29. ábra B) [378].

A terhesség alatt a méhlepény is termel CRH-t [414], ami születéskor gyorsan csökkenő CRH és ezzel együtt GC szintekhez vezet. A feedback eltűnésének hatására megnő a szoptató anya CRH termelése [415]. Bár sokan tapasztaltak csökkenést a CRH mRNS szintekben [416] (ami megerősítené, hogy ekkor az AVP a tengely fő szabályozója), de saját adatainkkal összhangban Da Costa egy másik patkánytörzsön (Sprague–Dawley) 3 nappal az ellés után szintén emelkedett CRH mRNS szintet mutatott ki a PVN-ben [161]. Arra következtethetünk, hogy a szoptatás fázisa (szüléstől való időtartam), vagy pillanatnyi állapota erőteljesen befolyásolhatja az eredményeket. Mindenesetre a di/di állatokban nem jött létre emelkedés a vizsgált HHM tengely paraméterekben a laktáció hatására. Ez egybevág azzal az elképzeléssel, hogy az AVP HHM-tengely szabályozásában betöltött szerepe megnövekszik krónikus stressz-folyamatok során [22, 24]. A szűz nőstényekben a genotípusnak nem volt hatása a tengely alap-működésére.

Az AVP stresszel összefüggő agyi szabályozó szerepének vizsgálatát immunhisztokémiai mérésekkel is kiegészítettük (30. ábra). Az aktiválódott idegrendszeri elemeket *c-Fos* festéssel tettük láthatóvá. Vizsgáltuk a HHM tengely központi részét, a PVN-t.

Az *mPVN* c-Fos alap aktivitását az AVP-hiányos patkányokban magasabbnak találtuk, mint kontroll (ebben az esetben +/+) társaikét. Ennek magyarázata lehet, hogy az AVP-hiány következtében a Brattleboro patkányok szérum ozmolalitása szignifikánsan magasabb, mint az AVP-vel rendelkező egyedeknek, így állandó ozmotikus stressznek vannak kitéve, mely folyamatosan stimulálja a PVN magnocellularis neuronjait. Ennek hatására ezek a neuronok hipertrofizálnak és fokozott aktivitást mutatnak [417], valamint magasabb c-Fos aktivitást lehet bennük mérni, nemcsak a nőstényekben, hanem hímekben is (31. ábra) [418-420]. Ennek az agyterületnek az FST-re bekövetkező aktivitásváltozása elenyésző volt. Ez az eredmény nem meglepő, mivel az *mPVN* feladata többek között a szervezet ozmotikus egyensúlyának megtartása, így a felborult só-víz háztartású *di/di* állatokban ez a terület már alapállapotban is aktív. A PVN ugyanakkor csak korlátozottan vesz részt a viselkedés és a stressz-tengely szabályozásában. Hasonló eredmények születtek azokban a vizsgálatokban is, melyekben az AVP mRNS szintjének változását regisztrálták a különböző stresszek hatására [421-423]. Ezen területek aktivitása sem akut, sem krónikus immobilizációra, sem lábsokkra nem változott.

A parvocellularis PVN dorsalis (*dpPVN*) és medialis (*mpPVN*) régiójának nyugalmi c-Fos aktivitása is hasonló tendenciát mutatott: a *di/di* patkányok bazális szintjei magasabbak voltak a kontroll csoporthoz képest. Ezekben a sejtekben azonban mindkét genotípus szignifikáns c-Fos emelkedést mutatott a stressz hatására. Irodalmi adatok szerint stressz hatására (például FST) a PVN parvocellularis régiójában emelkedik meg leginkább a c-Fos aktivitás [423, 424]. A *mpPVN* részből kiinduló neuronokból származó CRH és AVP az AL-hoz kerülve serkenti az ACTH termelését [425]. A *dpPVN* elsősorban az autonóm területekre vetít [426, 427]. Ezek a területek szerepet játszhatnak a stressz hatására bekövetkező szomatikus változások (pl. szívfrekvencia növekedés, izzadás) közvetítésében, ezért érhető, hogy a kontroll anyáknál FST hatására harmincszorosára emelkedett a c-Fos jel ebben a régióban. Az AVP ebben betöltött szerepét bizonyítja, hogy V1b vagy V2 receptor antagonistá icv beadása kivédi a stressz hatására bekövetkező szívfrekvencia fokozódást és baroreceptor deszenzitizációt, míg a vérnyomás emelkedését nem, ugyanakkor normál körülmények között AVP receptor antagonisták icv beadása nem okoz sem vérnyomás, sem szívfrekvencia változást [232]. A *di/di* állatok stressz-reaktivitása alacsonyabb volt, mint a kontrolloké (*mpPVN*: tizennégyszeres vs. négyszeres; *dpPVN*: harmincszoros vs. kilencszeres emelkedések). Ezeket az immunhisztokémiai

eredményeket számos hormonvizsgálat támasztja alá: Brattleboro patkányoknak mind fizikális [207, 428], mind emocionális stresszre [429] alacsonyabb a válaszreakciójuk [341].

Összességében tehát megállapíthatjuk, hogy a terhesség-laktáció alatt az AVP válik a HHM tengely alapaktivitásának fenntartójává, hiányában a krónikus stresszre jellemző elváltozások nem alakulnak ki. Az AVP-hiányos anyák PVN-je már alapállapotban is aktívabb, mint kontroll társaiké, de stresszreaktivitásuk csökkent. Azaz az AVP-nek szerepe lehet az akut stresszreaktivitás fenntartásában.

6.2. Akut stressz

Krónikus stresszorokkal végzett vizsgálataink nagyrészt nem támasztották alá az AVP szabályozó szerepének előtérbe kerülését, viszont rávilágítottak arra, hogy az akut stresszreaktivitás fenntartásában fontos lehet az AVP jelenléte.

6.2.1. Különböző akut stresszhelyzetek hatása

Akut stresszhelyzetekben az AVP-nek fontos, stresszor-specifikus szerep jut az ACTH szekréciójának szabályozásában.

3 különböző stresszválasz típust figyeltünk meg az AVP-hiányos állatokban:

- (1) Csökkent ACTH és kortikoszteron válasz (térfogati stressz, morfin injekció, szociális kudarc, mozgáskorlátozás), vagyis az AVP mindkettő szabályozásában részt vesz.
- (2) Csökkent ACTH válasz, a kortikoszteron válasz szignifikánsan nem különbözik a két genotípusban (újdonság stressz, EPM, CB1 agonista, LPS, kainát, hipertóniás só, FST, hipoglikémia, anafilaktoid reakció, ulcerogén hideg stressz), vagyis az AVP csak az ACTH szintek szabályozására van hatással.
- (3) Az AVP hiányának nincsen hatása sem az ACTH sem pedig a kortikoszteron szintjének szabályozására (szociális elkerülés, NMDA kezelés, lábsokk doboz és lábsokk, éter belélegzés stressz).

A bevezető részben (2.1.) már tárgyalásra került a stresszorok csoportosításának problémája. Jelen esetben az általunk felvázolt 3 stresszválasz-lehetőség nem illeszthető tökéletesen az ott említett egyik csoportosításhoz sem. Bár egyes korábbi elképzelések szerint az AVP-nek elsősorban a pszichogén stresszorokra adott válasz során van szerepe [430], megfigyeléseink ezt sem támasztották alá.

Felnőtt állatokban AVP immunneutralizálás [156, 220], V1b receptor KO egereken végzett vizsgálatok [222] és V1b receptor antagonisták alkalmazása [224] során is hasonló, az AVP-nek az ACTH elválasztás szabályozásában betöltött részleges szerepéről számoltak be [431]. Azaz kijelenthetjük, hogy felnőtt patkányokban az AVP stressz-tengely szabályozásában betöltött szerepe erősen kontextus függő, és nem követ egyetlen ismert stresszor csoportosítási rendszert sem (pl. erős-gyenge; fizikai-pszichogén; szisztémás-neurogén, interoceptív-exteroceptív). Feltételezhető, hogy a különböző stresszorok kiváltotta stresszválaszok különböző neuronális útvonalakon keresztül valósulnak meg, melyek közül egyesek AVP tartalmú idegsejteket is érintenek, míg mások nem [432].

A magnocelluláris eredetű AVP-nek rendkívül fontos szerep jut a szervezet vízháztartásának szabályozásában. Ugyanakkor **ozmotikus stimulusok** hatására a parvocelluláris neuronokban is gyorsan változik az AVP mRNS szintje [394]. Kísérleteinkben azt vártuk, hogy az AVP-nek erőteljes szerepe lesz a HHM-tengely szabályozásában ozmotikus stimulust jelentő stresszhelyzetekben (6. táblázat, 11. és 16. sor). A vizsgálatok eredménye azonban nem erősítette meg a feltételezéseinket és Brattleboro patkányok esetében a korábbi vízmegvonásos kísérletek is hasonló eredményeket hoztak [433]. Az egyik lehetséges magyarázat az lehet, hogy az AVP-vel nagy szerkezeti hasonlóságot mutató OT az, amely AVP hiányában az ozmotikus rendszert érintő változások, stresszhelyzetek során átveszi a szabályozást [434]. Valóban, saját kísérleteinkben is emelkedett OT szinteket sikerült kimutatnunk a di/di állatok PVN-jében [342] és SON-jében (35. ábra) [435] és ismert, hogy az OT képes az AVP receptorokhoz kötődni [434]. Ugyanakkor funkcionálisan a helyettesítés nem tökéletes (egyébként soha nem látnánk csökkent ACTH és/vagy kortikoszteron szinteket) [352]. Megfigyeléseink szerint ugyanis a „térfogati” terhelésre (1,5ml/100g az ip hipertóniás só oldat kísérlet kontroll kezelést kapott állatai) a HHM tengely aktivációja jelentősen kisebb volt az AVP hiányos állatoknál (csak kontroll állatoknál genotípus hatás: $p=0,01$). Ez az eredmény egybehangzik azzal, hogy a „térfogati” változás (pl. vérvesztés) AVP szint emelkedést okoz [436, 437].

Az alkalmazott stresszorok közül az **immunrendszer** aktiválása és a hipoglikémiás stimulus esetén figyelhattuk meg az AVP ACTH elválasztás szabályozásában betöltött jelentős szerepét a kortikoszteron szintekre gyakorolt hatás nélkül. Előbbiek esetében erőteljes aktiváció figyelhető meg a PVN-ben, különösen az AVP tartalmú neuronok esetében [438], bár az

aktiváció nem kizárólagosan a parvocelluláris neuronokra korlátozódik. A tojásfehérje stressz esetében igen erőteljes volt a genotípusok közötti különbség, míg az enyhébb ACTH emelkedést okozó LPS stimulusnál csak a di/+ állatokban volt megfigyelhető ACTH emelkedés, a di/di állatoknál nem. Ezen eredmények összecsengenek V1b receptor kiűtött egereken [6], és V1b antagonistákkal végzett vizsgálatok eredményeivel [439] és alátámasztják az AVP szerepét az immunrendszert (is) aktiváló stresszorokra adott válaszok esetében.

Az inzulin indukálta **hipoglikémia** esetében az AVP felszabadulás a hipofízis portális keringésébe meghaladta a CRH felszabadulását [440]. Az AVP szerepét a V1b receptor kiűtött egerek tanulmányozásával is sikerült bizonyítani, nemcsak a vércukorszint szabályozás [441], hanem a HHM tengely aktiváció tekintetében is [6, 441]. Saját kísérleteink eredményeiből arra következtettünk, hogy az AVP-nek erőteljes, bár nem kizárólagos szerep jut az ACTH elválasztás szabályozásában az inzulin indukálta hipoglikémia során. A V1b KO állatokkal végzett kísérlet eredményeivel szemben a Brattleboro patkányokban az ACTH szint csökkenést nem követte változás a kortikoszteron szintekben.

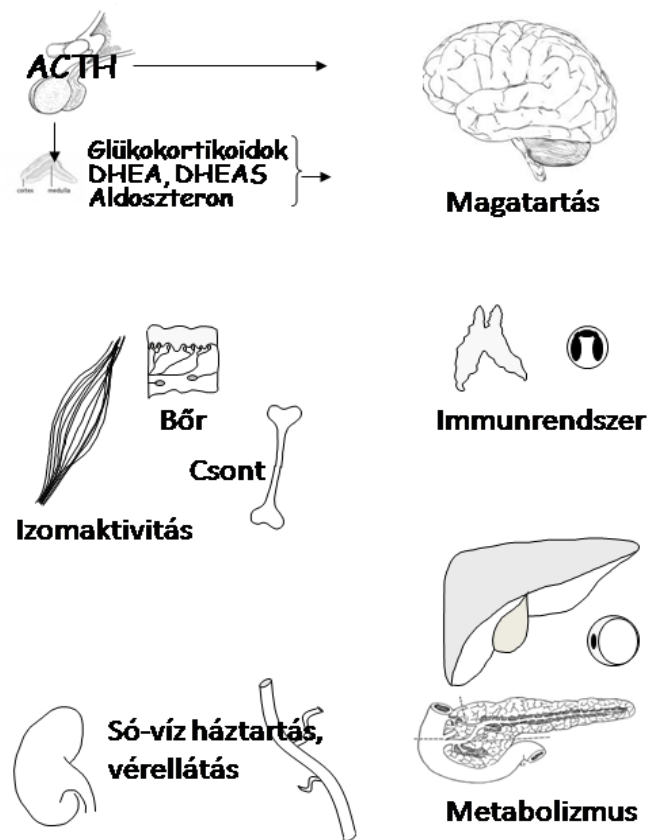
A kísérletek során felvetődhet az a kérdés, hogy vajon a heterozigóta állatok megfelelő **kontrollként** szolgálnak-e. A kérdés megválaszolására egyes stresszkísérleteink során a megszokott heterozigóta kontrollok mellett további kontroll csoportokat (Wistar patkányok, +/+ genotípusú Brattleboro patkányok) használtunk [326, 327]. Vizsgálataink alátámasztották korábbi megfigyelésinket. Már egyetlen tökéletesen funkcionáló allél elég ahhoz, hogy az AVP termelés normál szintet érjen el és a HHM tengely aktivációja (pl. ulcerogén-hideg stressz) ne szenvedjen zavart. A perifériás AVP hiányában kialakuló diabetes insipidus már önmagában krónikus stressz állapotot eredményezhet, ennek következtében csökkent stresszreaktivitás alakulhat ki további stresszorokkal szemben [22]. Hogy kísérleteink során kizárjuk a perifériás AVP hatását egy kísérletünkben (FST) DDAVP tartalmú ozmotikus minipumpát alkalmaztunk, s bizonyítottuk, hogy a bekövetkezett hormonváltozások esetében is a centrális AVP hiánynak volt szerepe.

Jelentős megfigyelésünk az is, hogy a kortikoszteron szintek változása a vérben nem mindig tükrözi az ACTH szintjének változását (6. táblázat). Az összefoglaló táblázatból kiolvasható, hogy a stresszorok mintegy 74%-a esetén (19-ből 14 stresszor) megfigyelhető a di/di genotípusú állatok csökkent ACTH válasza. Ebből a 14 esetből azonban csak 3 esetben figyeltünk meg csökkent kortikoszteron elválasztást is (kb 16%-a az összes esetnek). Az ACTH

és kortikoszteron stresszválasz közötti **disszociáció** megfigyelhető volt V1b receptor antagonistákkal kezelt Sprague–Dawley patkányokban [439], illetve a V1b KO egerekben is [442]. Mivel a jelenség a kispatkányokban még fokozottabban jelentkezett ezért részletesebb magyarázatára később, a kispatkányokkal kapcsolatban keríték sort.

6.2.1.1. ACTH extraadrenális szerepe

A HHM tengely véghormonja a kortikoszteron, így alapvetően elfogadott tény, hogy a stresszhez való alkalmazkodás legfontosabb paramétereként a HHM tengely egyéb hormonjainak szintjei is az ő szabályozásának céljából változnak [443]. Az AVP-hiányos állatokban az ACTH-kortikoszteron disszociáció azon eseteit láthattuk, mely során alacsony ACTH szintek mellett relative magas kortikoszteron szintek figyelhetők meg. Ezzel szemben perinatálisan, az SHRP során ennek ellenkezője tapasztalható: stressz hatására jelentős ACTH szint emelkedés mellett alig jelentkezik kortikoszteron emelkedés. Így felmerül a kérdés, hogy az ACTH milyen más funkciót tölthet be a GC elválasztás szabályozásán túl (53. ábra).



53. ábra Az ACTH hatásainak összefoglalása (Zelena és Makara, 2011 5. ábrája alapján).

A nyugalmi ACTH szint nem csak a **mellékvese** működésének fenntartásában, hanem annak fejlődése szempontjából is kiemelt fontossággal bír. Hatással van a szteroidok szintézisében résztvevő enzimeket kódoló gének működésére, így az MC-k (aldoszteron) révén közvetve részt vesz a só-vízháztartás szabályozásban. A szexuálszteroidok (mellékvese: DHEA, DHEAS) elválasztásának befolyásolásával pedig a nemi érésben is fontos szerepet játszik [444]. A szteroid hormon szintézis fokozására a mellékvesén kívül más szteroidogén szövetekben is képes [445, 446].

Ezzel összefüggésben intézetünkben folyó kutatások már a 60-as években igazolták, hogy az ACTH a petefészkek vérellátásának szabályozásában is jelentős szerepet vállal [447]. **Szív és érrendszeri** hatásai közé tartozik még a vérnyomás növelő hatás [448], a lokális véráramlás fokozása [447], és a só- és vízháztartás szabályozása a nátriurézisen keresztül [449].

Egyes vizsgálatok az ACTH-t mint lehetséges **immunmodulátort** tartják számon [450]. A GC-khoz hasonlóan rendelkezik direkt gyulladásgátló hatással. Mind a keringő limfociták, mind a csecsemőmirigy működését képes befolyásolni [451-453].

A szénhidrát és lipid **anyagcserére** gyakorolt hatásait agyban, májban, hasnyálmirigyben és barna zsírszövetben is tanulmányozták [454-456]. Az ACTH direkt szerepet játszik a hőszabályozásban, és szintje a táplálékfelvételre is hatással van [457]. Ezen kívül enyhe hatást gyakorol az **izomműködésre**, és a **csontképződésre** is, és az α -MSH-hoz hasonlóan a **bőr** pigmentáltságára is hatással van. Utóbbi háttere, hogy az α -MSH az ACTH első 13 aminosava. Exogén melanokortinok erős hatást gyakorolnak a viselkedésre, bár endogén hatásuk kevésbé bizonyított [458]. A direkt hatásokon túl receptorait megtalálták a szimpatikus ganglionokban is [459], így kiterjedt indirekt hatással is bírnak.

Az ACTH fent bemutatott mellékvesén kívüli hatásai nem csak kutatási, hanem diagnosztikai és terápiás használat szempontjából is érdekesnek ígérkeznek pl. csecsemőkori görcsökben [460], epilepsziában [461], és lipid csökkentő hatása miatt [462].

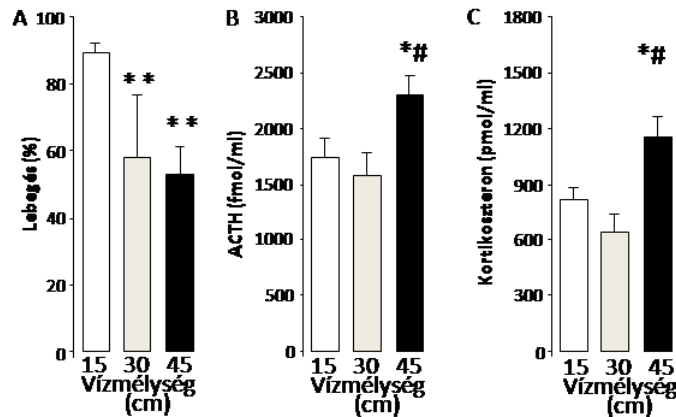
6.2.2. Mikrodialízis vizsgálatok

Egy német kollaboráció irányította figyelmünket a szomato-dendritikus AVP elválasztás felé, melyet mikrodialízis vizsgálatok segítségével tanulmányoztunk.

Ebben a kísérletsorozatban a veleszületett AVP hiány nem csökkentette a 10 perces FST hatására bekövetkező ACTH és kortikoszteron elválasztást a kezdeti időpontokban (33. ábra). Viszont míg a $+/+$ genotípusú állatokban 105 perccel az úszás teszt megkezdése után a plazma

kortikoszteron (33. ábra B) (és OT, 35. ábra F) szintjei az alap értékekhez tértek vissza, a di/di állatokban ezen hormonok szintje emelkedett maradt. Szintetikus AVP PVN-be történő retrodialízise elősegítette a plazma szintek hamarabbi lecsengését (34. ábra).

Némileg meglepő volt, hogy ebben a kísérletben az FST alatt, illetve röviddel utána az ACTH és kortikoszteron szintekben nem volt különbség a két genotípus között. Az előző (lásd Akut stressz) kísérletsorozatban alkalmazott FST esetén a víz hőmérséklete és mélysége is eltérő



54. ábra A vízmélység hatása az FST tesztben mutatott magatartásra és a stresszhormon-szintekre. (n=8-9) *p<0,05, **p<0,01 vs 15 cm; #p<0,05 vs 30cm (Pintér és mtsai 2011, 3. ábra alapján)

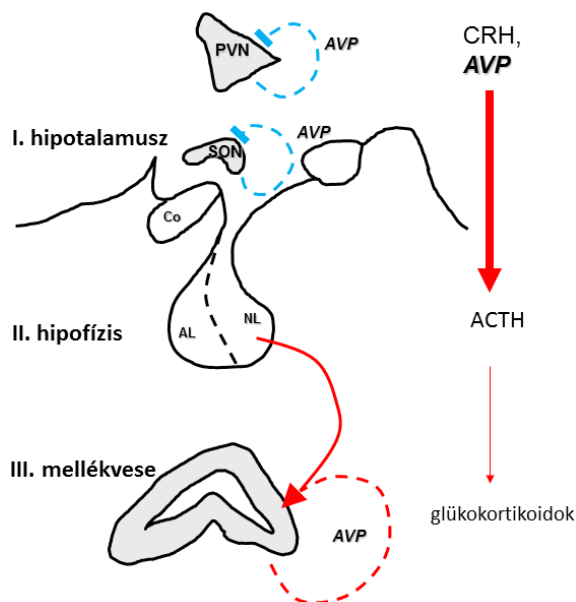
volt, ami erőteljesen befolyásolhatja nemcsak az állat magatartását [364], hanem akár a stresszreaktivitását is (54. ábra). Illetve az előző kísérletben 5 perces mintavétel történt, míg itt 2. és 15. perckor vettünk mintákat. Valamint ott di/+, itt +/+ (agyi műtéten is átesett) állatok szolgáltak kontrollként. Az anya genotípusának befolyásoló hatását kizárhatjuk [326], mivel mindkét kísérletben a di/di testállatok di/+ anyáktól származtak.

Az elhúzódóan magas kortikoszteron szintek vonatkozásában előző vizsgálatok arra utaltak, hogy a stressz hatására a PVN-ben felszabaduló és az extracelluláris térbe jutó AVP autokrin és parakrin szabályozó faktor is lehet. Több, mint 10 éve feltételezték, hogy gátló hatással bír a HHM tengely működésére [463] (55. ábra). Feltehetőleg a parvocelluláris sejtek CRH termelését szabályozza, s ezáltal a HHM tengely centrális komponensét befolyásolja [463]. Feltételezhetjük, hogy a di/di állatok PVN-jében mérhető magasabb OT szint az AVP parakrin szerepének kompenzálására alakul ki. Valóban, a hipotalamusz szintjén az OT is gátolja a HHM tengely működését [464, 465]. Továbbá nagy koncentrációjú OT a PVN-ben megtalálható V1a [466] és V1b receptorokhoz [467] is képes kötődni, legalábbis *in vitro* körülmények között. Azaz a PVN megemelkedett OT szintje hozzájárulhat ahhoz, hogy nem találtunk különbséget az FST hatására megemelkedő kezdeti ACTH és kortikoszteron szintekben. Retrodialízis kísérleteink alapján az FST során a PVN intracelluláris terébe jutó AVP segíti az OT plazma-szintek gyorsabb „lecsengését” is. Ezek az eredmények azért is különösen érdekesek, mert a retrodialízis csak az egyik oldali PVN-be történt, így feltételezhetjük, hogy a kétoldali kezelésnek még

nagyobb hatása lett volna. A felnőtt Brattleboro állatokban nem kompenzálódik teljes mértékig az AVP hiánya, s ez vezethet a 105. percben megfigyelhető magas OT szintekhez. Ez a magas plazma OT szint lehet a felelős az ugyanazon vérmintában mérhető magasabb kortikoszteron szintekért. Bár van néhány adat arra vonatkozóan, hogy az OT-nak közvetlen hatása van a mellékvesék kortikoszteron termelésére [468], további vizsgálatok szükségesek annak bizonyítására, hogy ezek az útvonalak a Brattleboro patkányokban is működnek, azaz kielégítően magyarázzák a kapott eredményeket.

Jelentős megfigyelésünk volt, hogy a centrális és perifériás OT szintek markánsan disszociáltak (emelkedett mRNS és fehérje szintek vs normális plazmaszintek a di/di vs +/+ állatokban; 35. ábra C,D vs F), illetve a di/di állatok SON-ének extracelluláris terébe praktikusán nem ürült OT annak ellenére, hogy az ott lévő sejtek OT tartalma magasabb volt (35. ábra C, D vs E). Az SON-be direkt alkalmazott ozmótikus stimulus hatására a di/di állatok ugyanolyan mértékű intranukleáris OT válasszal reagáltak, mint kontroll társaik [435], ami arra utal, hogy a sejtek képesek az extracelluláris térbe OT elválasztásra, csak épp ez AVP-hiányban akut stresszorok hatására nem következik be. Kimutatták, hogy a második posztnatális héten az SON-be extracellulárisan ürülő AVP és OT nemcsak a magnocelluláris sejtek dendrit-differenciációjához szükségesek, hanem a megfelelő szinaptogenezishez is [469, 470]. Azaz nem csoda, hogy az AVP kongenitális hiánya megváltoztatta az SON neuronok szabályozását.

Összegzésként megállapíthatjuk, hogy a PVN-ben felszabaduló AVP parakrin szignálként befolyásolja nemcsak a CRH termelő parvocelluláris, hanem az OT termelő magnocelluláris sejtek működését is és ezáltal elősegíti a plazma kortikoszteron és OT szintek normalizálódását akut stresszt követően. Az AVP hiányos állatokban a magasabb OT szintek részben kompenzálhatják az AVP HHM tengelyre gyakorolt hatását. Valószínűleg általános szabály,



55. ábra Az AVP eltérő hatása a HHM tengely különböző szintjeire. Kék: gátlás, Piros: serkentés (Zelena és Jain, 2008 1 ábra alapján)

hogy az mRNS és fehérje változások nem jelzik egyértelműen egy adott molekulának centrális, vagy perifériás ürülését, így csak az adott lokális kompartment vonatkozásában értelmezhetők.

6.3. Perinatális stressz

6.3.1. A vazopresszin hatása a korai posztnatális stresszreaktivitásra

Mivel perinatálisan a kompenzáló faktorok még nem fejlődtek ki teljesen, ezért a HHM tengely **stressz-reaktivitását** az SHRP alatt is megvizsgáltuk [147, 471]. Legfőbb megfigyelésünk, hogy az AVP hiányában a di/di állatokban a stressz kiváltotta ACTH válasz csökken, az esetek nagy részében egyáltalán nem jelenik meg (36. ábra A). Ezeket az eredményeket sikerült megerősíteni immunneutrizálással (37. ábra A) és V1b antagonistával (38. ábra A) alkalmazásával is, ami egy génhányos állatban (jelen esetben a Brattleboro patkányban) előfordulható minden lehetséges kompenzáció befolyásoló szerepét kizárja. Ellentétben a felnőtt egyedekkel, akikben a CRH a fő ACTH szekretagóg hormon [425], a fiatal állatokban az AVP számottevően nagyobb mennyiségben termelődik [156, 472]. Felnőtt állatokban egyszeri akut stressz 4 órával a stressz alkalmazása után CRH mRNS szint emelkedést vált ki és ez a szint közel 24 órán keresztül fennmarad [473]. Ezzel ellentétben a 10 napos kispatkányokban a 24 órás anyai depriváció nem váltott ki CRH mRNS szint emelkedést [342]. Perinatális korban az elülső hipofízis lebeny CRH érzékenysége is erősen csökkent, ugyanaz a CRH stimulus kicsikben 50%-os, míg felnőttekben 600-800%-os ACTH növekedést indukál. Tehát perinatális korban egy másik hipotalamikus faktor, vélhetőleg az AVP felel az ACTH válasz kialakításáért. Muret és munkatársai [156] inzulin hipoglikémiás, valamint Levine [153] és Avishai-Eliner [157] anyai szeparációs munkái szintén alátámasztják az AVP szabályozó szerepét. Érdeemes megemlíteni, hogy a 10 napos CRH-R1 KO egerekben a 24 órás anyai szeparáció okozta ACTH emelkedés nem változott, habár a kortikoszteron válasz fokozott volt, ami a CRH perinatális gátló szerepére utalhat (valószínűleg az előagyi és limbikus területekről) csökkent CRH mRNS és emelkedett AVP mRNS szinteket eredményezve az állat PVN-jében [474].

Néhány vizsgálat azonban a CRH perinatális szabályozó szerepét is alátámasztja. Újszülöttekben a hideg stressz hatására megemelkedett a CRH mRNS szintje a PVN-ben és mind a hideg [475], mind az uretán belégzés [476] hatására létrejövő kortikoszteron választ a CRH elleni immunizálás kivédte. Ez alapján az AVP szerepe **stresszorspecifikusnak** tűnik [153, 477] (lásd felnőtt állatok akut stresszválasza; 6. táblázat). Eredményeink részben támogatják ezen

feltételezéseket, mivel az anyai depriváció, 10 perc éter stressz és LPS injekció hatására az ACTH válasz az AVP hiányos állatokban teljes mértékben elmaradt, de ismételt éter stressz és Hypnorm injekció hatására ugyanezen genotípusú állatokban enyhe ACTH aktiváció még megfigyelhető volt. Mindenesre az ACTH-szekréció jelentős csökkenése minden egyes akut stresszor esetén megfigyelhető volt stresszorfüggetlenül.

Mindezen eredmények összességében arra utalnak, hogy perinatális korban az AVP lehet a kulcs szignál az ACTH elválasztás szabályozásában, legalábbis patkányokban.

Ugyanakkor az AVP szerepe korlátozottnak is tűnik, hiszen jelenléte vagy hiánya az ACTH alapszintjét nem befolyásolta. Ez összhangban van azzal a ténnyel, hogy a nyugalmi ACTH elválasztás az SHRP alatt relatíve független a hipotalamikus faktoroktól [478], az AVP szabályozó szerepe is csak a stressz-indukálta változásokra korlátozódik.

Az AVP direkt ACTH termelésére gyakorolt közvetlen hatásán túl elképzelhető, hogy hiánya **indirekt** módon is befolyásolja a stressz-tengely működését. A hipotalamusz működését amigdaláris és hippokampális központok is szabályozzák, melyek sejtjei AVP receptorokat is nagy mennyiségben fejeznek ki [186]. Ezek a felsőbb agyi központok az SHRP fenntartását szolgáló anyai szignálok továbbításában és a stresszor indukálta stimulusok hipotalamuszhoz való juttatásában is fontos szerepet töltenek be [479]. Így a hipotalamusz csökkent idegi stimulációja szintén hozzájárulhat a csökkent ACTH válaszhoz genetikai, farmakológiai vagy akár immunológiai létrehozott AVP hiány esetén is.

Érdekes megfigyelés, hogy perinatális korban az AVP-hiányos állatok mindegyik vizsgált stresszor (36. ábra) alkalmazása során magasabb kortikoszteron szinteket produkáltak normál AVP termelésű társaiknál, ami felveti annak a lehetőségét, hogy az erősebb **kortikoszteron negatív visszacsatolás** is hozzájárulhat a csökkent ACTH termeléshez. Ugyanakkor immunneutralizációval (37. ábra) és V1b antagonistával (38. ábra) végzett kísérleteink esetén a normális vagy akár alacsonyabb kortikoszteron szintek is csökkent ACTH elválasztással jártak, ami nem támasztja alá ezt az elképzelést.

Fontos, hogy az AVP-hiányos állatok nyugalmi kortikoszteron szintjei magasabbak a kontroll állatokhoz képest, különösen perinatálisan. A megemelkedett szintek nem járnak együtt nyugalmi ACTH szint emelkedéssel, azaz kialakításukat a szervezet a hipofízis megkerülésével éri el. A megemelkedett szintek hatása csak részben kompenzálódik, például perinatálisan az AVP-hiányos állatok megnövekedett CBG szintjeivel. A tartósan magas GC szintek az általános

elképzelés szerint viszont káros hatásúak nemcsak a fejlődő állatokra nézve (pl.: 10 napos állatok testsúlya di/+: $18,28 \pm 0,81$ g; di/di: $14,32 \pm 0,90$ g), hanem a felnőtt állatokban is, illetve emberben Cushing betegség kialakulásához vezetnek [480]. Felmerül a kérdés, hogy lehet-e mégis előnyös élettani funkciója a magas kortikoszteron szintnek, ami miatt alig kompenzálódik.

A **GC pozitív élettani hatását** támasztja alá, hogy mellékvese-irtott állatok kortikoszteronpótlás nélkül hosszú távon életképtelenek [481]. Továbbá a GC-k adaptív hatásának alátámasztására Szent Pétervár-i partnerünk, Ludmilla Filaretova számos kísérletben igazolta a kortikoszteron gasztroprotektív hatását is [482]. Saját AVP-hiányos állatainkban feltételezhetjük, hogy a fokozott kortikoszteron termelés a hiányzó AVP valamely kiesett élettani hatását/hatásait pótolja. Bár az AVP fő hatása a só- és vízháztartásra, míg a kortikoszteroné elsősorban az energia háztartásra terjed ki, találhatunk közös pontokat is. Például mindkét hormon esetén kimutattak erősszehúzó hatást is (AVP direkt hatása illetve a GC-k indirekt, katekolamin érzékenységet fokozó vagy NO szintet csökkentő hatáson keresztül). Ismert, hogy felnőtt Brattleboro patkányok artériás vérnyomása alacsonyabb [483, 484], és deoxikortikoszteron kezelés hatására is lassabban emelkedik meg kontroll társaikhoz képest [485]. Perinatális korú Brattleboro patkányok vérnyomás változásait nem vizsgálták, viszont Wistar kispatkányban AVP blokkolóval ($\alpha 1$ adrenoreceptor antagonist és angiotenzin 2 receptor antagonist jelenléte mellett) vérnyomás csökkenést lehet elérni [486]. Humán vizsgálatok arra utalnak, hogy az alacsony születési súllyal világra jött gyerekeknél a gyakori hipotenzió AVP-vel és agonistáival jól kezelhető [487]. Mindezek alapján elképzelhető, hogy az AVP hiányában megjelenő fokozott kortikoszteron termelés a vérnyomás fenntartására irányul, bár teljes mértékben nem tudja kompenzálni a kieső hatást.

Az **SHRP** teóriája szerint perinatális korban a stressz-reaktivitás csökken. Ezzel ellentétben az általunk alkalmazott stresszorok (LPS, hipoglikémia) esetén normál AVP termelésű 10 napos Brattleboro patkányoknál (és később Wistar patkányoknál is) a felnőttekével összemérhető ACTH szintek alakultak ki. Viszont a kortikoszteron szintek vonatkozásában tényleg kimutatható a csökkent reaktivitás. Ezért arra következtethetünk, hogy az SHRP a GC szintek alakulására vonatkozik.

A legérdekesebb és egyben talán legmegdöbbentőbb tapasztalat az **ACTH és a kortikoszteron szekréciójának teljes elkülönülése** az AVP hiányos kisállatokban. Normális esetben az ACTH szekréciója megelőzi a kortikoszteron elválasztását és utóbbi szekréciója

szoros korrelációban van az előbbiével. Ezzel az általános képpel szemben a 36. ábrán bemutatott 5 stresszor esetén az ACTH válasz praktikusán hiányzik az AVP hiányos állatokban, míg a kortikoszteron elválasztása sokkal erőteljesebb.

6.3.2. Az ACTH független glükokortikoid szekréció

Mind a felnőtt állatokban (6.2.1., 6. táblázat), mind a korai posztnatális fejlődés során (6.3.1., 36-38. ábrák) megfigyelhettük, hogy bár az AVP jelentős mértékben szabályozza az ACTH elválasztást, de a kortikoszteron szintekre nincs ugyanilyen befolyással. Mielőtt tovább gondolnánk az ACTH-GC szekréció disszociációját fontosnak tűnik kizárni a mérési módszereinkből, érzékenység különbségekből adódó eltéréseket. Mivel a disszociáció a korai posztnatális korban kifejezettebb volt, ezért a további vizsgálatokat ilyen korú egyedeken végeztük.

6.3.2.1. Kizárandó jelenségek

6.3.2.1.1. Eltérő időbeli lefutás

Fontos kérdés a mintavételezés időzítése. Mivel a stresszorokra adott kortikoszteron válasz késve követi az ACTH választ [339], a két amplitudó időben elcsúszik egymástól, így a mintavételezés idejének helytelen megválasztása ellentmondásokhoz vezethet. Az 39. ábrán bemutatott (továbbá számos, felnőtt állatokból sorozatmintavételezéssel nyert) eredményeink kizárják annak a lehetőségét, hogy a jelenség oka a két esemény időbeli eltolódása lenne. Hiszen a 10 napos patkányban az egyre hosszabb szeparációs idők esetén a di/di genotípusú állatokban az anyai depriváció a plazma kortikoszteron szintjét fokozatosan emelte, addig az ACTH válaszok teljes egészében elmaradtak. Hasonló (bár nem magyarázott) jelenséget olvashatunk Walker és munkatársai cikkeiben [153, 477], ahol 10 napos Sprague Dawley kispatkányoknál az anyai deprivációt követő 8 és 12 órában erőteljes kortikoszteron elválasztás mellett csak kismértékű ACTH szint emelkedés tapasztaltak. Korábbi vizsgálatok szerint a mellékvesék GC szekrécióját befolyásolhatja a táplálás elmaradása, ami pedig az anyai depriváció értelemszerű velejárója [153, 477]. Éppen ezért anyai szeparációval nyert eredményeinket egy másik stresszorral (Hypnorm injekció) is megerősítettük [342].

Összefoglalva az ACTH és kortikoszteron elválasztás disszociációja nem magyarázható eltérő időbeli lefutásukkal.

6.3.2.1.2. CBG szintek

Mind a preklinikai, mind a klinikai gyakorlatban egy általánosan alkalmazott savanyítási lépés a mérés során leválasztja a GC-kat a kötő fehérjéről. Ezáltal elkerülhető, hogy a minta kezelése során bekövetkező kötődési változások miatt kapjunk téves eredményeket. Ugyanakkor ezáltal nem a biológiailag aktív, hanem az össz GC mennyiséget (szabad + CBG-hez + egyéb fehérjéhez kötött) mérjük. Mivel logikusnak tűnik feltételezni, hogy a szabad (és nem az összes) kortikoszteron szintek követik az ACTH szint változásokat [343], a kötött mennyiség becsléséhez a CBG szinteket is megmértük (40. ábra). Perinatális korban az AVP-hiányos állatok magasabb, a felnőttekét megközelítő CBG szinteket mutattak, ami kis mértékben ellensúlyozza az AVP hiányában perinatális korban látott abnormálisan magas össz-kortikoszteron szinteket. Hozzá kell tennem, hogy a felnőtt állatokban nem különbözik a két genotípus CBG szintje, azaz itt egyáltalán nem magyarázható ezzel az ACTH-kortikoszteron disszociáció [338].

6.3.2.1.3. Mellékvese érzékenység

Felmerült az a lehetőség is, hogy a mellékvese-kéreg eltérő ACTH érzékenysége miatt kis ACTH változások is nagy GC szint változásokat eredményezhetnek [488, 489]. Ezt a kérdést *in vitro*, statikus inkubálási rendszerben vizsgáltuk. Várakozásainknak megfelelően perinatális korban az AVP-hiányos állatok mellékvesei fokozottabb kortikoszteron elválasztással válaszoltak az ACTH-ra: az ACTH érzékenység 87,9 %-kal nagyobb, amennyiben 10^{-13} M, 62,2 %-kal nagyobb, ha 10^{-12} M és 57,6%-kal, ha 10^{-11} M koncentrációjú ACTH-val kezeltük a szerveket (a di/+ és a di/di állatokban mért értékek egymáshoz viszonyított százalékos aránya). Mivel az AVP gátolhatja az ACTH/kortikoszteron szignáltranszdukciót [490], az emelkedett mellékvese érzékenység annak lehet a következménye, hogy az AVP gátló hatása hiányzik a di/di kispatkányokban (ezzel némileg ellentétes az AVP direkt, mellékvesekéregre gyakorolt serkentő hatása, 55. ábra). Ez a jelenség feltehetően csak egy azok közül, amelyek a mellékvesék ACTH érzékenységét fokozzák a di/di állatokban.

Kérdés, hogy ez az érzékenység növekedés teljes mértékben megmagyarázza-e az ACTH-GC disszociációt. Igazából a 36. ábrán bemutatott 5 stresszor közül 3 esetén a teljesen elmaradó ACTH válasz irrelevánssá teszi a kérdést, de az ismételt éter stressz és a Hypnorm injekció alkalmazása során tapasztalható kismértékű ACTH válasz a di/di kölykökben is, ami azért további megfontolásokat igényel.

Amennyiben az alap kortikoszteron szintekhez viszonyítottuk az emelkedéseket a 9. táblázatban bemutatott eredményeket kaptuk.

Azaz valóban, a di/di genotípusban a mellékvesék érzékenysége emelkedett volt minden koncentráció esetében.

10 napos di/+os kölykök esetében az Hypnorm kezeléssel megemelte az ACTH és a kortikoszteron szinteket is (236,8

fmol/ml és 132,7 pmol/ml) vagyis egy fmol ACTH szekréciónak 0,56 pmol kortikoszteron köthető. Amennyiben a számokat a di/di genotípusban vizsgáljuk akkor a következő eredményekre jutunk: az ACTH szint az injekció után 28,2 fmol/ml volt, míg a kortikoszteron szint 109,1 pmol/ml. Vagyis ebben az esetben az arány lényegesen eltér, hiszen egyetlen fmol ACTH szekréciónak 3,87 pmol kortikoszteron elválasztását eredményezi. Vagyis hasonló mennyiségű ACTH a di/di genotípusban közel 7-szer nagyobb kortikoszteron szekréciónak vált ki, míg az érzékenység növekedés kb. másfélszeres volt. Azaz a mellékvesék ACTH érzékenységének fokozódása nem lehet kizárólagos magyarázata a disszociált ACTH és kortikoszteron szekréciónak.

Az AVP hiányos állatok mellékvese kérgének fokozott ACTH érzékenysége megmagyarázza, hogy a normál AVP termelésű állatok miért nem mutattak fokozott kortikoszteron szinteket V1b antagonisták kezelését követően. Ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy a perinatálissal ellentétben felnőtt állatokban egyáltalán nem láttunk különbséget a mellékvese-kéreg ACTH érzékenységében a két genotípus között. Továbbá korábbi, felnőtt Brattleboro patkányokon végzett vizsgálatok sem találtak különbséget az ACTH-indukálta kortikoszteron válaszban [207], sőt Wiley és mtsai még csökkent érzékenységet is megfigyeltek [429]. Ezen ellentmondás rávilágít az irodalmi és saját adataink megerősítésének fontosságára és a korfüggő változások figyelembevételére.

6.3.2.2. ACTH független glükokortikoid szekréciónak

A két hormon közötti disszociáció számos korábbi tanulmányban megfigyelhető, bár sokszor nem tárgyalt jelenség. Például birkák esetében a magzati korban alkalmazott hipoxia szintén erőteljes kortikoszteron szint emelkedést váltott ki, de az ACTH szint változása elmaradt [491]. Ezekben az állatokban a kortikoszteron szint emelkedése a mellékvesék nervus splanchnicus általi beidegzésétől függ. Hasonlóképp a Brattleboro patkányokban is AVP hiány

ACTH koncentráció	Genotípus	
	di/+	di/di
10^{-13} M	85,5%	158,9%
10^{-12} M	206,5%	335,2%
10^{-11} M	212,4%	334,9%

9. táblázat Az ACTH érzékenység vizsgálata (Zelena és mtsai 2008 alapján)

hatására kis ACTH szintekhez nagy kortikoszteron szintek társulhatnak. Fontos megemlíteni, hogy V1b antagonistá és AVP antiszérum alkalmazásával végzett kísérleteink során az abnormálisan magas kortikoszteron szint növekedés perinatális korban elmaradt, bár az alacsonyabb ACTH szintekhez ezekben az esetekben is relatíve magas kortikoszteron szintek társultak. Összességében arra következtethetünk, hogy az akut kortikoszteron elválasztás nem vagy csak gyengén függ az ACTH-tól az egyedfejlődés korai szakaszában. A jelenség nem kizárólagosan a Brattleboro patkányokra jellemző.

Ugyanakkor Bornstein cikkében [492] arról olvashatunk, hogy felnőtt egyedekben is létezik a kortikoszteron elválasztásának ACTH független módja. Felnőtt AVP-hiányos állatok esetén egyes stresszorok (6. táblázat középső rész) hatására bár kisebb ACTH válasz jelentkezik, de a kortikoszteron szintekben a két genotípus nem mutat különbséget. V1b antagonistával [493] és V1b KO egereken [494] végzett kísérletek is hasonló eredményekről számolnak be.

Mivel a CBG szint mérések és a fokozott mellékvese érzékenység felnőtt korban egyáltalán nem, és korai posztnatális korban is csak részlegesen adtak magyarázatot a disszociáció jelenségére, ezért megállapíthatjuk, hogy létezik ACTH független GC elválasztás is [343].

6.3.2.2.1. *Mellékvese katekolaminok*

Az egyik legkézenfekvőbb a katekolaminok (2.2.3.1.1.) szerepének feltételezése. Hiszen a stressz-reakció első fázisa során az alarm, vagy Cannon-féle vészreakció alatt a mellékvesevelőből kiáramló katekolaminok (elsősorban adrenalin) játszanak fontos szerepet [495, 496]. Az adrenalin felszabadulása a mellékvese-kéreg közvetlen közelében történik, így nagy koncentrációban éri el a GC termelés helyszínét, valamint felszabadulása időben is megelőzi a GC elválasztás fokozódását a stressz-reakció folyamatában. Ezen túl a mellékvesekéreg splanchnikus beidegzést is kap, ami elsősorban noradrenalin felszabaduláson keresztül szabályozza a működését [55, 57]. Bornstein és mtsai is a splanchnikus beidegzésnek tulajdonították a legnagyobb jelentőséget [343]. Mindezek hatására a lehetséges szabályozó faktorok közül a katekolaminokra, azon belül is a β adrenoreceptorokra koncentráltunk (2.4.3.2.1.). Walker és mtsai [497] marha mellékvesekéreg sejteken kimutatták, hogy az adrenalin cAMP-szint emelkedést okozott a foszfoinozitol szignalizációs út megváltoztatása nélkül. Mivel a β adrenoreceptorok serkentése az adenilát cikláz útvonalat aktiválja, így nem csoda, hogy glukokortikoid elválasztás a β receptorok blokkolásával gátolható volt. További vizsgálat β 1

adrenoceptorokon keresztül megvalósuló hatást mutatott ki [498], bár más szerzők $\beta 2$ adrenoceptorok cAMP stimuláló hatását is leírták [499]. Az $\alpha 1$ agonisták viszont Gq fehérjéken keresztül a foszfoinozitol utat aktiválják, így antagonistáik hatástalannak mutatkoztak.

Ismert, hogy AVP-hiányos felnőtt Brattleboro patkányokban a **katekolaminok nyugalmi mennyisége** az agyban [407] és a plazmában is [500] magasabb normál AVP termelésű társaikénál. Ennek háttereként azt feltételezték, hogy az AVP a baroreflex elősegítése révén gátló hatást gyakorol a SAS-ra. Valóban, a perifériás AVP pótlás után az emelkedett adrenalin és noradrenalin szintek normalizálódtak. Ez hozzájárulhat a sokszor már nyugalmi állapotban is magasabb kortikoszteron szintek kialakulásához, illetve a stressz-reakció során - legalábbis az ACTH-hoz képest - fokozott GC elválasztáshoz. Az előző adatok azonban rávilágítottak, hogy a korai posztnatális korban a stressz-reakció alapvetően más lehet, mint a felnőtt állatban, így szükségesnek tűnt ebben a korcsoportban is megvizsgálni a katekolamin szinteket (42. ábra). Meglepő módon a 10 napos AVP-hiányos patkányok plazmájában a noradrenalin szint alacsonyabb volt, mint a kontroll, di/+ os társaikban, míg az adrenalin szintnek nem különböztek. Egy lehetséges magyarázat, hogy a korai fejlődés során a diabetes insipidus nem jelentkezik, azaz az AVP SAS-t szabályozó szerepe hiányzik. Későbbi vizsgálataink során viszont kimutattuk, hogy a 10 napos di/di állatok húgyhólyagja több vizeletet tartalmaz, mint a kontroll, di/+ testvéreiké és plazmájuk ozmolaritása is emelkedett (a felnőttekét meghaladó mértékben, 10. táblázat) [501]. Ezzel ellenétben Dlohua és mtsai csak a 18 napos állatokban tapasztaltak csökkenést a vizelet ozmolaritásában és vizsgálataik szerint a polidipszia is csak 15-16 napos korban kezdődik [502].

	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	Osmol/l
di/+	130±1,02	7,6±0,14	94,4±0,34	285,3±1,37
di/di	148,5±3,23##	12,98±2,31##	116,1±0,78##	336,2±3,03##

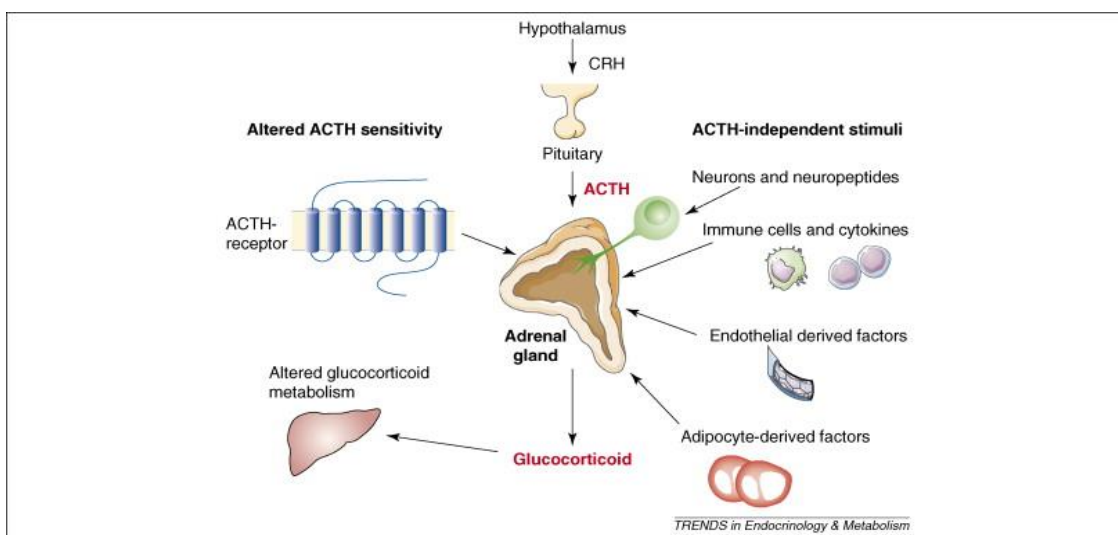
10. táblázat 10 napos Brattleboro patkányok nyugalmi állapotban mért Na⁺, K⁺, és Cl⁻ ion és ozmolaritás (fagyáspont csökkenéssel) szintjei. ##p<0,01 vs di/+.

Stresszorok hatására a SAS aktiválódik, bár ismételt éter belégzés Wistar patkányokban is hatástalan. Számos korábbi vizsgálat szerint a felnőtt Brattleboro állatok SAS rendszere ugyanolyan reaktív, mint más törzseké [500], ezért nem valószínű, hogy eredményeinket törzsek közti különbség magyarázhatná. Legvalószínűbb, hogy a katekolaminok szintje a mért időpontban már nem mutatott jelentős emelkedést, sőt – feltehetően egy átmeneti emelkedés után

– az adrenalin szintje csökkent. Felnőtt állatban hasonló bifázisos hatást éter stressz esetén nem találtak. Érdekes módon mozgáskorlátozás stressz esetén sem a katekolaminok, hanem a kortikoszteron szintek mutattak bifázisos választ egy patkánykísérletben [503]. A SAS tekintetében az idegi komponens esetén írtak le bifázisos (kezdeti csökkenést követő emelkedés) választ [504]. Valamint számos szerző szerint a kezdeti (idegi eredetű, első 30 perc) emelkedést egy késői (nem idegi, valószínűleg mellévesevelő eredetű, 30-60 perc közötti) növekedés is kísérheti [505, 506]. Összességében azt mondhatjuk, hogy a plazma szintjén nem sikerült bizonyítani, hogy a katekolaminok hozzájárulnának az AVP-hiányos állatokban a magasabb nyugalmi kortikoszteron szintekhez. Bár felmerülhet technikai kifogás (a katekolaminok szintjét dekaptálás után mértük, amikor posztmortem is történhetett kiáramlás a mellékveséből, mivel a kispatkányban éber állatban történő vérvételei technikát még nem dolgoztak ki), de a katekolamin szintetizáló enzimek szintjében sem találtunk számottevő különbséget a két genotípus között, ami alátámasztja eredményeinket [507]. A stressz-indukálta változások megítéléséhez ezek az adatok viszont nem tűntek elegendőnek.

Bár *in vitro* számos szerző vizsgálta különféle faktorok hatását a mellékvese GC szekréciójára, *in vivo*, az endogén hatások feltérképezésére nem volt igazán jó modell. A 10 napos AVP-hiányos állatok segítségével (ahol ACTH válasz hiánya mellett figyelhető meg fokozott kortikoszteron elválasztás) *in vivo* körülmények között igazoltuk, hogy stressz során a mellékveséből felszabaduló adrenalin hatással van a kortikoszteron termelésre β adrenoreceptorokon keresztül (43. ábra). Igaz ugyan, hogy a β adrenoreceptorok blokkolása után nem sikerült teljes mértékben csökkenteni a stresszre bekövetkező kortikoszteron választ, még a dózis emelését követően sem, így feltételezhető más szabályozó faktorok – vagy akár más adrenoreceptor - szerepe is. Például elképzelhető, hogy az *in vivo* rendszerünkben az $\alpha 1$ receptorok blokkolásával további csökkenést lehetett volna elérni a kortikoszteron termelésben, márcsak az $\alpha 1$ antagonisták (pl. prazosin) vérnyomáscsökkentő, következményesen csökkent vérátáramlást okozó hatásánál fogva is. Az $\alpha 2$ receptorok azonban általában autoreceptorokként funkcionálnak, így ezek gátlása esetén inkább kortikoszteron emelkedést várhatnánk. De ezen feltételezésünket sem saját, sem irodalmi adat nem támasztja alá. Összességében megállapíthatjuk, hogy a stressz folyamatok során a SAS tengelynek is kulcsfontosságú szerep jut a kortikoszteron felszabadulásban [508, 509].

Számos egyéb faktorról (neuropeptidek, neurotranszmitterek, opioidok, növekedési faktorok, citokinek, adipokinek, bakteriális ligandok) ismert, hogy képes szabályozni a GC-k felszabadulását [510-514] (56. ábra). Ezen kívül zsírszövetből és az érfalból származó faktorok GC termelést fokozó hatását is leírták [356]. Továbbá az intraadrenális parakrin szabályozás is jelentősen hozzájárul a mellékvese-kéreg működéséhez [515]. Elképzelhető, hogy a csökkent plazmaszintek miatt lokálisan akár magasabb AVP szintézis is létrejöhet a Brattleboro patkányok mellékveséjében [219] és ezek GC elválasztást serkentő szerepe (55. ábra) [516] hozzájárulhat a megfigyelhető nyugalmi kortikoszteron emelkedésekhez. Felnőtt korra az előbb felsorolt faktorok kompenzálhatják az AVP hiány hatását a mellékvese szintjén. Ezek a molekulák a stresszor fajtájától függően jelen lehetnek és befolyásolhatják a kortikoszteron felszabadulását.



56. ábra A mellékvese glükokortikoid elválasztásának lehetséges fokozói (Bornstein és mtsai, 2008)

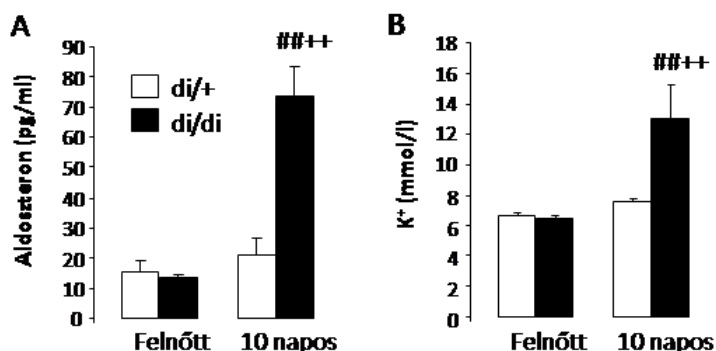
Teoretikusan az is elképzelhető, hogy SHRP során és/vagy AVP hiányában a POMC enzimátikus hasítása változik meg, melynek eredményeként ACTH helyett egyéb kortikoszteroid termelést elősegítő molekulák képződnek. Persze ez azt is feltételezi, hogy perinatális korban az AVP-hiányos és normál AVP termelésű állatok nyugalmi állapotban is eltérő ACTH fragmentumokat szintetizálnak, mely különbség később felnőtt korra csökken. Mivel az ACTH fragmentumok kortikoszteron termelést stimuláló hatása messze elmarad (kb. 70-szeres különbség) az ACTH hatásától [517], így az esetlegesen megváltozott proteolitikus hasítás önmagában aligha magyarázza az ACTH – kortikoszteron disszociációt.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az AVP szükséges ugyan az ACTH stresszválaszok érési folyamatában, de sem az AVP sem pedig az ACTH nem nélkülözhetetlen a kortikoszteron stressz válaszok kialakulásában. Eredményeink is alátámasztják az úgynevezett paraadenohipofizeális neuroendokrin szabályozás elméletét [508], ugyanakkor a neonatális korban induló érési folyamatok és a stresszválaszok szabályozásának tanulmányozása további kísérletek elvégzését igénylik.

6.3.2.2. Glüko- és mineralokortikoidok

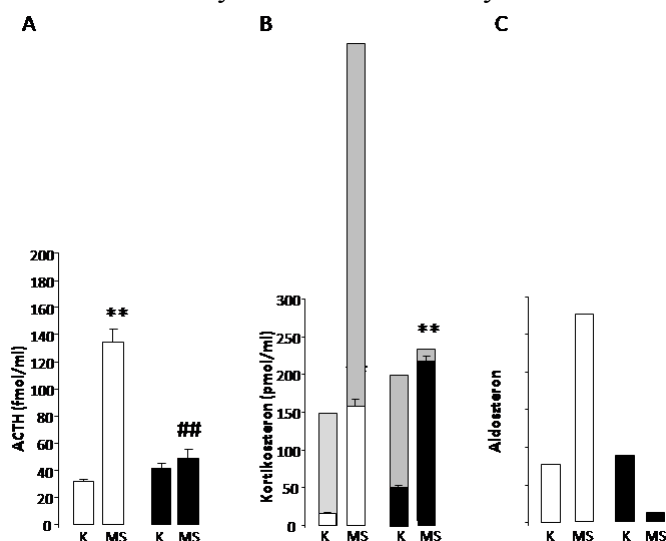
A GC-k és MC-k szerkezeti hasonlósága, receptoraik átfedése vezetett minket arra az elképzelésre, hogy perinatálisan az ACTH a kortikoszteron kívül esetleg más szteroid hormonok termelődését is serkentheti, melyek képesek lehetnek akár GC-szerű hatások kiváltására is. Ezen elképzelés szerint a GC-k és MC-k együttes termelődése jobban korrelálhat az ACTH szintekkel, mint a GC szintek önmagukban. Hipotézisünk bizonyítására aldosteron mérésekre is sort kerítettünk és az 57. ábrán bemutatott eredményeket vártuk.

Elképzelésünket nem sikerült igazolni (vs 57. és 44. ábra), a GC és MC emelkedések összességében sem követték az ACTH szintek változásait sem felnőtt, sem korai posztnatális Brattleboro patkányokban. Az aldosteron szintek nagyrészt azonosak voltak a két genotípusban, bár a termelést alapvetően meghatározó K^+ alapszintek jól korreláltak a nyugalmi aldosteron



szintekkel (mindkettő 10 napos di/di állatokban mutatott egyedül szignifikáns emelkedést; 58. ábra).

58. ábra Nyugalmi aldosteron és K^+ vérszintek felnőtt és 10 napos kontroll di/+ -os és AVP-hiányos Brattleboro állatokban (n=10) ##p<0,01 vs di/+, ++p<0,01 vs felnőtt



57. ábra 24 órás anyai szeparációra létrejövő ACTH (A) és kortikoszteron (B) emelkedésekhez tartozó hipotetikus aldosteron (B szürke és C) emelkedések.

A vérplazma ozmolaritása és az ennek kialakításáért elsősorban felelős Na^+ és Cl^- ionok szintje jelentős genotípus függő eltéréseket mutatott (10. táblázat). Ezen só- és vízháztartás zavar alapján is joggal lett volna várható, hogy az aldoszteron, mint a fenti folyamat szabályozásában részt vevő molekula, termelődésének módosulásával igyekszik kompenzálni az AVP hiányt.

Meglepő új eredményként a kispatkányok stressz hatására ugyan kisebb kortikoszteron, de magasabb aldoszteron szint emelkedéssel reagáltak, mint a felnőttek (11. táblázat), ami felveti a két molekula stressz-folyamat során betöltött relatív fontosságának kor függő változását. Ezt a meglepő eredményt sikerült reprodukálni Wistar patkányokban két különböző (a hipoglikémiát okozó Actrapid injekción túl az immunogén LPS injekcióval is) stresszor alkalmazása esetén is [360].

	Felnőtt	10 napos
Kortikoszteron	12x	2,5x
Aldoszteron	6x	13x

11. táblázat Hipoglikémia hatására bekövetkező hormonszint emelkedések mértéke felnőtt és 10 napos kispatkányokban.

Perinatális korban hipoxia során mások is figyeltek meg korábban aldoszteron szint emelkedést [518]. Továbbá humán vizsgálatok is megerősítik a korai posztnatális korban a fokozottabb MC reaktivitást. 3-4 hónapos csecsemőkben ACTH kezelés hatására 3-szoros aldoszteron szint növekedés váltható ki, míg a kortikoszteron szint növekedés mindössze 1,5-szörös [519]. Ismert tény az is, hogy gyerekkorban a nyugalmi aldoszteron szintek is magasabbak, és csak később csökkennek a felnőtt korra jellemző szintekre [520-522].

Az aldoszteron szintézis legfontosabb szabályozója a RAS és saját eredményeink is egyes stresszorok esetén megerősítették, hogy az aldoszteron szintje követi a renin szintek változását. Azonban például a hipoglikémia esetén nem találtunk ilyen összefüggést. Ezen stresszor esetén mind állatkísérletek, mind humán vizsgálatok szerint sem a plazma renin aktivitás, sem a noradrenalin szintek nem mutatnak jelentős emelkedést [519, 523]. Ekkor az ACTH fontosabb szerepet is betölthet az aldoszteron szintek szabályozásában, mint az angiotenzin-II. Elképzelhető azonban, hogy más peptidek, mint a leptin [524] és Homer I [525, 526] állnak a perinatális korú állatok fokozott aldoszteron termelésének hátterében, de ennek pontos mechanizmusa ismeretlen.

Mivel a hormonszintek alakulása csak utal a lehetséges hatásra, ezért a hatás kifejlődéséhez nélkülözhetetlen receptor/enzim készlet (GR, MR, $11\beta\text{HSD1/2}$) vizsgálatát is elvégeztük 45. ábra). Ezek során a hippokampuszban csökkent GR és MR, valamint emelkedett $11\beta\text{HSD2}$ szinteket találtunk a 10 napos állatokban a felnőttekkel összehasonlítva. Tehát perinatális korban a csökkent kortikoszteron szintek a $11\beta\text{HSD2}$ enzim hatására lokálisan még

alacsonyabbak és a kevesebb receptoron kisebb hatást tudnak kifejteni, ami tovább erősíti az aldoszteron funkcionális jelentőségét. A GR és MR receptorok esetén végzett immunhisztokémiai vizsgálataink megerősítették eredményeink hitelességét [360].

A genotípusok között egyedül a **11 β HSD2** szintjében találtunk különbséget, ami magasabb volt a di/di állatokban. Erre az AVP-hiányos állatok magasabb kortikoszteron szintjei miatt lehet szükség. Ugyanis perinatális korban a 11 β HSD2 agyban ellátott elsődleges feladata az éretlen, mitotikusan aktív agy sejtjeinek védelme lehet a kortikoszteron károsító hatásaitól [527, 528]. A fejlődés során a 11 β HSD2 mind génexpressziós szinten, mind aktivitásában csökken [529-531]. Ez hozzájárulhat a GC-k hatásának korfüggő növekedéséhez [522].

Az agyi **GR** születés utáni növekedését emberben [532], egérben [533] és patkányban is leírták [534, 535]. Érdekes módon öreg korban ismét alacsony GR receptor számok figyelhetők meg patkányban [536]. Tehát a posztnatális fejlődés során az öregedéssel ellentétes irányú változások mennek végbe, melyek közrejátszhatnak pl. a memória funkciók alakításában.

Az agyi **MR** receptorok fő funkciója a GC-k negatív visszacsatolásának biztosítása [537]. Az MR mRNS szintek egérben [533] és az MR immunreaktivitás patkányban (saját adat) is fejlődésfüggő változásokat mutat, melyek a hippokampusz egyes részeit eltérő mértékben érintik. De MR receptorok az agyon kívül számos egyéb szervben (szív, vérerek, zsírszövet, makrofágok) is nagy mennyiségben megtalálhatóak [85]. Legújabb elképzelések szerint a nagy népességet érintő metabolikus szindróma kialakulásában is szerepet játszhatnak [538]. Az aldoszteron hatásait a vesében is ez a receptortípus közvetíti köszönhetően a helyileg magas 11 β HSD2, GC lebontó enzim koncentrációnak. Spirolaktonnal (aldoszteron antagonist) végzett vizsgálatokkal kimutatták, hogy az MC-k perinatális korban a szívizom sejtek proliferációjára, apoptózisára is nagy hatással vannak, befolyásolva ezzel a szív növekedését és fejlődését [539].

A perinatális kori GC szintek alacsonyan tartásának jótékony hatásai már régóta ismertek [540, 541]. Tehát a perinatális korú állatok szervezete igyekezik megelőzni a fokozott kortikoszteront termelésből adódó rendellenességeket. Ugyanakkor az is belátható, hogy nagyobb mennyiségű hormonnal és egy aktívabb szabályozó rendszer (11 β HSD1/2) segítségével jóval finomabb szabályozás érhető el. Lehetséges, hogy emiatt előnyös a szervezet számára aldoszteronról kortikoszteronra váltani a kor előrehaladtával, amikor utóbbi egyedfejlődésre gyakorolt káros hatása már nem jelent számottevő problémát. Ugyanakkor a fejlődő szervezetben a fokozott aldoszteron aktivitás fontos, akár pozitív GC-szerű funkciókat láthat el [542]. Egyre

több adat áll rendelkezésre például a metabolizmusra kifejtett GC-szerű hatásáról [538]. Bár az aldosteron elsődlegesen az MR receptorokon keresztül fejt ki hatását, azokon akár GR hatások közvetítésére is képes [543], és néhány irodalmi adat alapján GR receptorokon is képes lehet hatni [139]. GR receptor hiányos egerekben (amelyek csak néhány napig képesek túlélni) mind a renin, mind az aldosteron szint megemelkedik, ami szintén a hiányzó GC-k pótlásának jele lehet [544]. Sajnos több kísérletünk, mely során az aldosteron GC-szerű hatását kerestük (negatív visszacsatolás, glükóz anyagcsere), értékelhetetlennek bizonyult. Nagyobb a valószínűsége, hogy a perinatálisan fokozott aldosteron reaktivitás elsődleges szerepe a só- és vízháztartás egyensúlyának fenntartása [518]. A vértérfogat szabályozása perinatálisan egyértelműen nagyobb igénybevételt jelent a szervezet számára, mint felnőtt korban [545]. További fontos megfigyelés, hogy perinatális korban az aldosteron nem genomiális mechanizmusokon keresztül védelmet nyújt a sejtek térfogat növekedése ellen a vesében és tüdőödéma esetén is [546-548].

Összességében feltételezhetjük, hogy perinatálisan a HHM tengely véghormonjának az aldosteron tekinthető. Eredményeink megalapozottságát fokozza, hogy két patkánytörzsben és kétféle, egymástól hatásmechanizmusában nagyon különböző stresszor esetén is sikerült bizonyítani a korosztályok közötti különbségeket.

6.4. Gyomorfekély

További eredményeink egyértelműen igazolták, hogy az AVP korfüggően befolyásolja a gyomornyálkahártya fekélyképződését, hiszen a fiatal AVP hiányos egyedekben csökkent, míg az idősokban fokozott fekélyképződés volt megfigyelhető ulcerogén dózisú indometacin injekció hatására (46. ábra). Vizsgálatunk volt az első, ami igazán öreg állatokat használt és meglehetősen fiatalokkal hasonlította össze és kézenfekvő magyarázattal szolgált a korábbi, ellentmondásos eredményekhez (lásd 2.4.2.5.1.).

Bár a gyomorfekély stressz-függése ismert (számos kutató stressz-okozta fekélyképződést vizsgált), de kísérletünkben egyértelmű összefüggést a HHM tengely aktivitása és a fekélyképződés közt nem találtunk [244].

A kontroll állatok vizsgálata során megerősítettük azokat a korábbi megfigyeléseket, melyek szerint a korrallal nő a fekélyképződés (46. ábra A) [255, 549]. Korábbi vizsgálatokban az etanol-indukálta gyomorfekély mérete nagyobb volt a 14-16, mint a 6-8 hetes állatokban és ezzel párhuzamosan csökkent számos védő faktor (opioidok, kapszaicin, prosztaglandinok) szintje is

[255]. A humán szituáció is hasonló, hiszen a gyomorfekély az 55-70 éves férfiak között a leggyakoribb [248]. Jól ismert az is, hogy a nem szteroid gyulladásgátlókhoz köthető gyomorfekély képződés is korrelál a korrall [550].

Fontos megemlíteni, hogy a di/+ -os állatok érzékenysége teljesen megegyezett a +/+ állatokéval, ami megerősíti, hogy a di/+ -os állatok is megfelelő kontrolloknak tekinthetők.

A korfüggő változások hátterében az állhat, hogy a fiatal állatokban, ahol a mikrocirkuláció még jó, az AVP-nek lokális vazokonstriktor hatása lehet, fokozva a fekélyképződést. Ezt alátámasztja, hogy AVP immunreaktivitás kimutatható a gyomorból, aminek lokalizációja (legmagasabb koncentráció a fundusban) egybeesik a lézió helyével (46. ábra C) [551]. Későbbi korban centrális hatások kerülhetnek előtérbe [253].

Kísérleteink egy meglepő felfedezése volt, hogy a táplálék visszapótlására a gyomorfekély ugyan meggyógyul, de az állatban súlyos bélrendszeri fekélyek alakulhatnak ki [384]. Ezen ellenétes folyamat tükrében nem is csodálkoztunk azon, hogy az AVP is ellentétesen hat a gyomor- és a bélfekélyek kialakulására, míg fiatalokban a gyomorfekélyt csökkenti, addig a bélfekély képződést valószínűleg növeli (lásd magasabb halálozás), míg idős állatokban fordított szerepű.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az AVP fiziológiás szerepe nagyon sokrétű és a gyomor-bélrendszeri fekélyek kialakulását számos ponton képes lehet befolyásolni. A direkt hatásokhoz hozzáadódnak a hatására létrejövő hormon és metabolikus változások (amelyek fiatal állatban még csak rövid ideig állnak fenn, míg idősben krónikus hatásokkal kell számolnunk). Ezen hatások eredője erősen korfüggő. Általános tanulság, hogy a kísérletek tervezésénél figyelembe kell venni az állat korát, nemét (lásd elsősorban nőstényeken végzett kísérletek 2.4.2.5.1.) és különös figyelmet kell fordítani a megfelelő kontrollokra.

6.5. Szorongás- és depresszió-szerű viselkedés

Ismert, hogy a stressznek, a stressz hormonoknak és különösen a GC-knak fontos szerepe van az állatok viselkedésének szabályozásában [552, 553]. Mivel az AVP hiány nem befolyásolta az izomerőt vagy a mozgáskoordinációt (2. táblázat), ezért további, az állatok valamilyen mozgását feltételező vizsgálatok értelmezhetőek voltak.

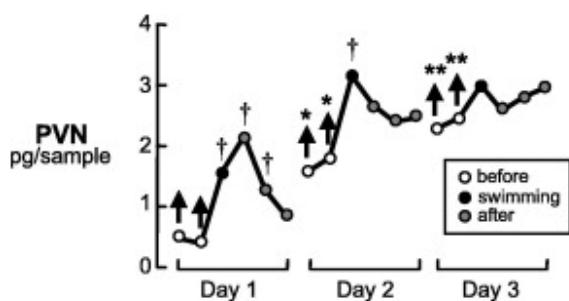
6.5.1. Szorongás-szerű viselkedés

Számos korábbi vizsgálat utalt az AVP lehetséges szorongáscsökkentő szerepére (pl. [259, 262, 554]). Az EPM tesztben az irodalomban V1 antagonistákkal végzett kísérletek során magasabb számú nyílt karba való belépést, valamint nyíltkarban töltött több időt észleltek, vagyis az AVP 1-es típusú receptorának gátlásával csökkent szorongási szintet értek el [263]. Viszont a V1b antagonistákkal végzett kísérletek során ellentmondó eredményeket találtam: egyes vizsgálatokban nem találtak eltéréseket az EPM tesztben [555], míg mások szignifikáns nyílt kari aktivitásemelkedést észleltek [294].

Mindenesetre mi sem hím (49. ábra A [335]), sem nőstény Brattleboro anyákon [277] végzett kísérleteinkben sem találtunk eltérést a genotípusok között normál körülmények között, még abban az esetben sem, ha nemcsak di/+ kontrollokat alkalmaztunk, hanem +/+ patkányok is tesztelésre kerültek.

Arra gondolhatunk, hogy az AVP élethosszig tartó hiánya a Brattleboro patkányokban befolyásolhatja az AVP szorongáscsökkentő szerepét (másodlagos elváltozások pl. a dopamin rendszerben [556]). A hímekben megfigyelt mosakodási magatartás csökkent előfordulása a Brattleboro patkányokban azonban egyértelműen a csökkent szorongást jelzi. A mosakodás egy stressz-csökkentő sztereotíp viselkedés [557, 558]. Korábban azt találták, hogy a fokozott mosakodás erősen összefügg a nyílt kar csökkent felderítésével és szorongáscsökkentő kezelés csökkenti [557, 559-561].

Érdekes módon a perifériás AVP visszapótlást alkalmazó kísérletünkben szignifikáns különbséget találtunk a hím Brattleboro patkányok és +/+ társaik közt, mégpedig az irodalmi adatokkal összhangban a nyílt kari aktivitásuk fokozott volt a di/di állatoknak (48. ábra A). Ebben az esetben az EPM tesztet FST előzte meg, aminek hatására fokozódik az AVP kiáramlás



59. ábra Ismételt FST hatására megnő a PVN extracelluláris terébe ürülő AVP mennyisége (Engelmann és mtsai, 2004)

nemcsak a vérbe, hanem a szómából és dendritekből az extracelluláris térbe is (59. ábra) [25]. Ez a di/di állatokban nem következik be, ami a két genotípus különbségének növekedéséhez vezethet. Mindenesetre ezen kísérlet fő célja az volt, hogy igazoljuk, nem a perifériás AVP-hiány másodlagos következményei-e a magatartási változások. Mivel a DDAVP-vel kezelt di/di

állatok teljesen úgy viselkedtek, mint a kezeletlen AVP-hiányos társaik, ezért megállapíthatjuk, hogy az AVP centrális hatás révén lehet képes befolyásolni a szorongást. Összetett hatásával azonban több ponton is beavatkozhat a folyamatba (lásd például V1 antagonistá ellentétes magatartási hatásai a szeptumban [264] és az amigdalában [562]), így egy szisztémás AVP antagonistá kezelés nem tűnik jó farmakológiai beavatkozásnak a szorongásos tünetek enyhítésére, annak ellenére, hogy a V1b antagonistá (SSR149415) állatkísérletekben hatékonynak bizonyult [563]. Bár hatása sokkal kisebb volt, mint a klasszikus szorongásoldóknak (diazepam) és elsődlegesen szociális stresszhelyzetekben nyilvánult meg [294].

6.5.2. Depresszió-szerű viselkedés

A depresszió a HHM tengely krónikus hiperaktivitásával jár együtt [564] és humán mintákban is egyes agyterületeken emelkedett AVP szintek figyelhetők meg [565, 566]. Saját eredményeink is egyértelműen alátámasztják, hogy az AVP-hiányos állatok (mind a hímek: 47 és 48. ábra B és C, [335] mind az anyák [277]) aktívabb megküzdési stratégiát választanak az FST teszt során, azaz kevésbé tűnnek depressziósoknak kontroll társaikhoz képest. Ez megerősíti számos, hím állatokkal végzett kísérlet eredményét. Az AVP veleszületett hiánya, a centrális AVP receptorok blokkolása, a szisztémásan beadott specifikus V1b antagonistá, a specifikusan a PVN-be juttatott V1 vagy a bilaterális, intraszeptális V1b receptor blokkoló bejuttatása szintén csökkentik a lebegés gyakoriságát [256, 275, 294, 335, 555].

Saját adataink némi variabilitást mutatnak az egyes FST paraméterek tekintetében. Míg a hím állatokban egyértelműen csökkent a lebegés, addig az anyákban inkább a küzdés nőtt meg. Míg közvetlenül az amigdalába juttatott V1 antagonistá hatására a lebegés idejének csökkenése mellett a küzdéssel töltött idő is szignifikánsan nő [562]. Az eltérő hatásmechanizmusú antidepresszánsok különböző módon hatnak az FST paramétereire [567]. Elképzelhető, hogy az AVP-hiány a két nemből is eltérő módon befolyásolja az egyes neurotranszmitterek termelődését, ezáltal finomabb magatartási alterációkhoz vezetve.

Mindenesetre a perifériás AVP pótlás ezt a paramétert sem befolyásolta (48. ábra B), azaz egyértelműen egy centrális hatásról van szó, aminek az irodalmi megítélése is egységes. Érdekes megfigyelés volt, hogy a nem túl jól automatizálható teszt esetén az egyszerűen detektálható fécesz darabszám nagyon jól korrelált a lebegéssel.

A depresszió stresszel való szoros kapcsolata miatt logikusnak tűnt feltételezni, hogy az AVP a depresszió-szerű magatartásra a HHM tengely befolyásolása révén hat. Ennek ellenére

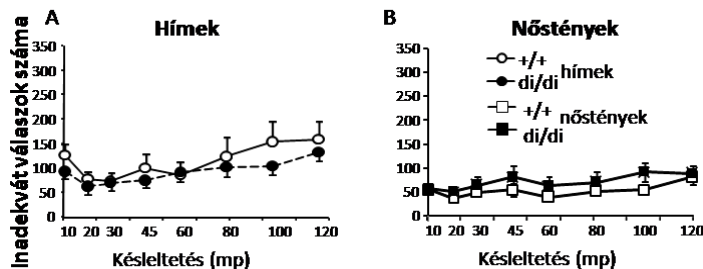
nem tapasztaltunk direkt összefüggést a stresszhormonok akut plazmaszint emelkedései és az állatok magatartása között (vs 33. és 47. ábra). Ezzel összhangban hipofízis irtott állatokon is (ahol a HHM tengely szerepe nem szól bele a hatásba) hatékony volt a V1b antagonistá az FST paraméterekre [294]. A centrális hatást erősítik c-Fos eredményeink is (30. ábra). Azaz bizonyos agyterületek alacsonyabb stressz-reaktivitása hozzájárulhat a csökkent depresszió-szerű tünetek megjelenéséhez.

Mindezek alapján az AVP jó terápiás célpontnak tűnt depressziós magatartási zavarok kezelésére [191, 192, 568]. Ennek a megállapításnak azt sem mond ellent, hogy a klinikai fázisba került V1b antagonistá SSR149415 humán vizsgálatokban nem volt hatékony [273], hiszen ezek a receptorok elsősorban a hipofízisen találhatók és a HHM tengely működését befolyásolják [185], míg vizsgálataink inkább más agyi támadáspontokra utalnak.

6.6. Impulzivitás

Némileg ellentmondva az AVP memóriában betöltött szerepének, mely kiterjedt irodalommal rendelkezik (pl. [260, 309], az operáns kondicionálás során a tanulási fázisban az AVP hiány nem befolyásolta a nagy jutalom preferenciájának megtanulását sem hím, sem anyaállatokban. Ez alátámasztja az AVP összetett szerepét a memóriafolyamatok szabályozásában.

Bár a hímek esetén nem találtunk különbséget az impulzivitásukban sem, de az anyaállatokban a normálisan fokozódott döntési (kis jutalom preferencia; 49. ábra C) és motoros (inadekvát válaszok száma; 49. ábra D) impulzivitás növekedése az AVP hiányában elmaradt. Jentsch és Taylor a **nemek közötti különbséget** vizsgálta. Eredményeik szerint a gonádok eltávolításával, vagyis a nemre jellemző hormonális háttér megszüntetésével a hímek impulzivitása csökken, míg a nőstényeké nő [569]. Ha meta-analízisnek vetjük alá a hím és szűz nőstény Brattleboro patkányokon végzett kísérleteink eredményeit [570, 571] (60. ábra)



60. ábra Motoros impulzivitás hím és nőstény Brattleboro patkányokban. Az A rész megegyezik a 52. ábra B részével. (n=10) (Aliczki és mtsai, 2014, Fodor és mtsai, 2014)

láthatjuk, hogy az alacsonyabb inadekvát válaszok száma alapján a nőstények alacsonyabb impulzivitást mutatnak, mint a hímek, függetlenül a genotípustól. Vagyis a nem

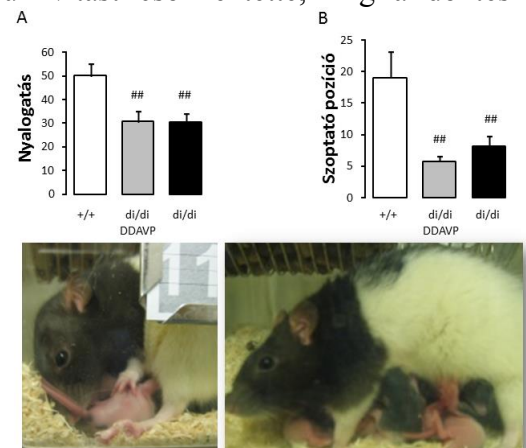
AVP független módon befolyásolja az impulzivitást. Ugyanakkor laktáló patkányok esetében már az AVP is szerephez juthat, hiszen csak AVP jelenlétében emelkedik meg az anyák impulzivitása (49. ábra C és D rész), míg AVP hiányában az a szüzekhez hasonló szinten marad. Ezek alapján elmondható, hogy a laktáció alatti impulzivitás emelkedéséhez AVP szükséges, mely változás az anya számára előnyös lehet, ha az még a funkcionális impulzivitás szintjén belül marad.

Az impulzivitás és HHM-tengely összefüggését is felfedezhetjük, hiszen a szűz nőstényekben ugyan nem volt különbség a genotípusok közt, de a laktáló állatokban fokozottabb CRH mRNS szintek, valamint nyugalmi kortikoszteron szint emelkedés és mellékvesesúly növekedés az AVP hiányában elmaradt (29. ábra). Valóban, a GC szint más szerzők szerint is befolyásolja az impulzivitást, bár a hatás némileg ellentmondásos: pubertáskorban patkányoknak adott krónikus kortikoszteron kezelés a motoros impulzivitást csökkentette, míg a döntési impulzivitást növelte [572].

6.7. Agresszió

Az AVP agresszióban betöltött ellentmondásos szerepét (2.4.2.5.2.2.) azzal próbáltuk feloldani, hogy egyetlen paradigmában (a Brattleboro állatokban) vizsgáltuk a nem és a reprodukzív állapot befolyásoló hatását [570]. AVP hiányában nem csak az anyai gondoskodó magatartás (61. ábra), hanem a kölykök védelmezését szolgáló anyai agresszió is csökkenést mutatott (51. ábra). Míg az idősebb, szexuálisan tapasztalt hímekben nem volt különbség a genotípusok közt (50. ábra B), addig a „normál” felnőtt hím állatok is csökkent minőségi agressziót mutattak (50. ábra A): bennük ugyan a harapások száma nem változott, de AVP-hiányában a durva harapás mennyisége alacsonyabb volt.

Bár elképzelhető lenne, hogy az AVP-hiányos állatok megváltozott só-víz háztartása befolyásolja a kapott eredményeket, de ozmotikus dehidratációnak kitett patkányok, akiknek a plazma nátrium szintje az AVP-hiányos állatokhoz hasonlóan emelkedett (10. táblázat), nem mutattak eltérő agresszivitást [573].



63. ábra Anyai magatartás 7 napon át napi 3-szor (8:30, 14:30, 30:30) vizsgálva (összesen 420 megfigyelés). (n=10) ##p<0,01 vs+/+ (Fodor és mtsai 2012, 2-3. ábrák alapián)

Ugyan az **agresszivitás alapszintje** az alábbi sorrendben nőtt: felnőtt hím<késői laktáló<reproduktív tapasztalattal rendelkező hím< kora laktáló; de az AVP befolyása nem volt párhuzamos az agresszió fokozódásával és a következő sorrendet követte: reproduktív tapasztalattal rendelkező hím (hatástalan)<felnőtt hím (minőségi hatás)<kora laktáló (mennyiségi hatás)<késői laktáló (minőségi és mennyiségi hatás). Azaz az AVP agressziót moduláló hatása független volt az alapaktivitástól.

Habár a **kor** itt is szerepet játszhat, hiszen a reproduktív tapasztalattal rendelkező hímek egyben idősebbek is voltak és az agresszió korfüggő változásokat mutat [574]. Az agresszió időbeli változása az anyákon is megfigyelhető (vs 51. ábra A és B). Az irodalmi adatoknak megfelelően mindkét genotípus agressziójának szintje csökkent a laktáció előrehaladtával [383], de a di/di csoportnak még így is alacsonyabb maradt az agresszivitása a későbbi időpontban is, mint a +/- anyáknak.

A felnőtt és reproduktív tapasztalattal rendelkező hímek közötti különbség arra utal, hogy az AVP interakcióba léphet a **tesztoszteronnal**. Bár az AVP-nek nincs direkt hatása a tesztoszteron termelésre [575], de mindkettő erőteljesen befolyásolja az agressziót [576-578]. Feltételezhetjük, hogy a reproduktív tapasztalattal rendelkező hímek magas tesztoszteron szintje érzéketlenebbé teszi őket az AVP moduláló hatásával szemben. Az is elképzelhető, hogy az egyes agyterületeken eltérő AVP hatások kioltják egymást, ami a tapasztalt hímekben fokozottabban jelentkezik.

A **laktáló anyákban** megfigyelhető fontosabb szerep összefügghet azzal, hogy bennük az AVP rendszer igen aktív és az anyai magatartás szabályozásában is erőteljes szerepet játszik [290, 579, 580]. Az AVP hiányában elmaradt az anyai magatartások előfordulásának növekedése (61. ábra), ami az anyai agresszió szintjét is befolyásolhatja, hiszen a kölykök gondozása közben az anyát érő taktilis ingereknek agressziót fokozó hatása van [581].

Bosch az AVP szerepét az anyai agresszió szabályozásában is megvizsgálta a HAB/LAB törzsön [582]. Azt találta, hogy a centrális amigdala AVP tartalma az agresszívabb HAB csoportnak mind a nyugalmi értékeknél, mind a LAB csoporténál szignifikánsan magasabb volt az agresszió teszt alatt. V1a receptor antagonistá beadása csökkentette ennek a csoportnak az agresszivitását, míg a LAB állatoknak AVP adása növelte azt. Összességében ennek a munkának az eredményét megerősítettük, ugyanis az AVP-hiányos állatainkhoz hasonló, csökkent AVP szintű LAB anyák kevésbé agresszívek, és rosszabb anyák, mint a normál AVP-jű HAB egyedek. Cordero szintén

pozitív korrelációt talált laktáló patkányok agresszivitása és AVP szintje között a 7. postpartum napon [285]. V1b antagonistá icv akut beadása a laktáló patkányok gondoskodó magatartását csökkentette, viszont az agressziójukra nem volt hatással [583], míg V1a antagonistá meglepően növelte azt [584].

Kísérleteink érdekes eredménye az agresszió **menyiségi és minőségi paramétereire** gyakorolt hatások **disszociációja**. Míg a felnőtt AVP-hiányos hímekben a harapások összmennyisége nem, csak a durva harapások száma csökkent, addig az anyákban mindkét időpontban csökkent az agresszió mennyiségi mérőszáma (harapás), míg a sérülékeny területre való támadás mennyisége csak a laktáció késői szakaszában változott. Ezek az eredmények relevánsak lehetnek az abnormális agresszió állatmodelljeiben, ahol a minőségi változók állnak előtérben [282, 585]. Bár vizsgálati állataink mindegyike természetes agressziót mutatott, de az AVP erőteljesen hatott a patológiásnak számító minőségi változókra. Valóban, humán vizsgálatok szerint is van összefüggés az AVP és a személyiségzavarokban megfigyelhető agresszió között [283, 285, 300].

Összefoglalva kísérleteink az AVP agressziót növelő szerepét támasztják alá, ami erőteljesen függ a nemtől és a reprodukív állapottól.

7. Következtetések

Eredményeink tükrében a következő főbb következtetéseket vonhatjuk le (dőlt betűvel az AVP szerepén túlmutató általános megállapítások):

1. Hím patkányokban az **AVP** nem lényeges a HHM tengely nyugalmi aktivitásának fenntartásában. Ugyanakkor a laktáló állatokban a krónikusan fokozott nyugalmi HHM tengely aktivitás fenntartásában alapvető jelentőségű.
2. Cáfoltuk azt a korábbi állítást, hogy patkányokban krónikus stressz során az AVP fontos szerepet töltene be a HHM tengely szabályozásában.
3. Akut stresszben az AVP-hiány stresszorfüggő módon csökkenti az ACTH és kortikoszteron elválasztást, ami nem esik egybe egyik ismert kategorizálással sem.
4. Akut stressz során az agyban extracellulárisan felszabaduló AVP lokális gátló hatása révén segíti a stressz-hormonok szintjének lecsengését.
5. A Brattleboro állatokban a normális stresszreaktivitás fenntartása érdekében nem CRH, hanem OT emelkedés figyelhető meg, viszont a funkcionális kompenzáció nem teljes. Általános szabály, hogy *az mRNS és fehérje változások nem jelzik egyértelműen egy adott molekulának centrális, vagy perifériás ürülését*, így csak az adott lokális kompartment vonatkozásában értelmezhetők.
6. A korai posztnatális életkorban az AVP lehet a kulcsszignál az ACTH elválasztás akut stressz alatti emelkedésében, de nincs hatással a nyugalmi szintekre.
7. Létezik *ACTH-független GC szabályozás* az akut stressz alatt. Ebben a folyamatban a SAS (katekolaminok, β adrenoceptor) fontos, de nem kizárólagos szerepet töltenek be.
8. *Perinatálisan a HHM-tengely egyik véghormonjának az aldoszteron is tekinthető*, hiszen ekkor szintje akut stresszre jobban megemelkedik, mint a kortikoszteroné.
9. **Patológias vonatkozásban** az AVP korfüggő módon befolyásolja a gyomorfekély képződést.
10. Az AVP szorongásban kevésbé játszik szerepet, míg hiánya csökkenti a depresszió-szerű tünetek előfordulását, de ebben a vonatkozásban a támadáspontja nem a HHM tengely.
11. Laktáló anyákban az AVP szerepe fontos lehet az anyai agresszióban, hiánya gátolja az anyákra jellemző impulzív, agresszív viselkedés megjelenését.

8. Összefoglalás

A vazopresszin (AVP) fontos szerepet játszik a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese (stressz) tengely szabályozásában. Kísérleteink elvégzése előtt az volt az általános vélekedés, hogy a krónikus stresszfolyamatok során nő meg a molekula szerepe. Ezt a kérdést természetes mutáció révén AVP-hiányos Brattleboro patkányokban vizsgáltuk. Az állattörzs lehetőséget teremtett arra, hogy a stresszorok modalitásbeli és intenzitásbeli sokféleségét vizsgálhassuk anélkül, hogy a különféle beavatkozások extra stresszének tennénk ki az állatokat.

A krónikus stressz kísérleteink eredményei alapján arra következtethetünk, hogy az AVP-nek inkább az akut, mint a krónikus stressz során lezajló változásokban lehet szerepe. Pontosabban az akut stresszorok esetében is az eddig ismert kategóriáktól (például fizikai vagy pszichológiai) független stresszorspecifikus szerepe van az adrenokortikotropin (ACTH, a stressztengely hipofízeális komponense) és kortikoszteron (a tengely mellékvese komponense) szint emelésében. Perinatális korban a stressz által kiváltott ACTH és a kortikoszteron stresszválasz teljes disszociációját figyeltük meg: AVP hiányában elmaradt az ACTH stresszválasz, de a kortikoszteron válasz jelentős volt. Arra következtettünk, hogy perinatális korban az AVP szabályozza az ACTH elválasztását, a kortikoszteron elválasztásában pedig az ACTH-n kívül más anyagok (például katekolaminok) is nagy szerepet kaphatnak. Meglepő módon a korai posztnatális korban az aldoszteron szintje jobban változik akut stressz hatására, mint a kortikoszteroné, így feltételezhejük, hogy ebben a korban az aldoszteron is fontos stresszhormon.

Patológiás vonatkozásban az AVP további életkor-függő szerepét figyeltük meg. Az AVP hiánya a gyomorfekély kialakulását például pubertás korban gátolta, míg idős korban ulcerogén hatású volt. Pszichés rendellenességek esetén az AVP szorongásban kevésbé játszik szerepet, míg a depressziós tünetek megjelenését fokozhatja, de ezt nem a stressz-tengely befolyásolásával teszi. Az impulzivitás és agresszió tesztek során az AVP szerepe a laktáló anyákban volt erőteljes, ahol hiánya az anyákra jellemző impulzív, agresszív viselkedés megjelenését gátolta.

Kutatásaink hozzájárultak az AVP fiziológiás és patológiás folyamatokban betöltött szerepének jobb megértéséhez és számos terápiás célpontra világítottak rá. Nem várt következtetéseket vontunk le az ACTH-kortikoszteron, valamint agyi és perifériás mRNS-fehérje disszociáció, az ACTH extraadrenális hatása és az aldoszteron perinatális szerepe tekintetében.

8. Summary

Vasopressin (AVP) plays an important role in the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis regulation as well as in stress-related disorders. A common view suggested that the role of AVP is especially important during chronic stress. We used the naturally AVP mutant Brattleboro rat as a model organism. This strain is a good choice for stress studies as we could examine the role of AVP without any extra, stressful treatment.

The role of AVP was studied in the HPA axis regulation after different acute and chronic stimuli as well as during the perinatal period. The chronic stress studies lead to the conclusion that AVP may play a role in acute rather than chronic HPA axis changes. After comparing 19 acute stressors we concluded that AVP has a stressor specific role in acute changes, which does not follow any known category (like somatic and psychic). We observed that stress-induced adrenocorticotropin (ACTH, the hypophyseal level of the stress axis) and corticosterone (the adrenal component) stress response completely dissociated during the perinatal period. In AVP-deficient Brattleboro pups the ACTH stress response was missing but significant corticosterone response was visible. Therefore we concluded that during the perinatal period AVP is the main hypothalamic secretagogue of the ACTH secretion and corticosterone secretion could be regulated by other substances (e.g. catecholamines). To our surprise during the perinatal period the level of aldosterone changed more to acute stressors than corticosterone. That let us to conclude that aldosterone is the main stress-hormone at this age.

Examination of pathological changes led to reveal further age-dependent role of AVP. In juveniles AVP aggravates the development of gastric ulcer, while in old animals it has a protective role. Anxiety-related behavioral changes was not influenced by AVP, while AVP antagonist might be useful in depression, independently from the HPA axis regulation. AVP may contribute to the enhancement of aggression and impulsivity in lactating mothers, which could be an adaptive phenomena.

All in all our studies contributed to the better understanding of the role of AVP in physiological and pathological processes and highlighted therapeutic targets. Unexpected conclusions were drawn on ACTH-corticosterone dissociation, extraadrenal role of ACTH and perinatal role of aldosterone.

9. Irodalomjegyzék

1. Selye, H., *The nature of stress*. Basal Facts, 1985. **7**(1): p. 3-11.
2. Selye, H., *The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation*. J Clin Endocrinol Metab, 1946. **6**: p. 117-230.
3. Zelena, D., *The Janus Face of Stress on Reproduction: From Health to Disease* International Journal of Endocrinology 2015. **2015**: p. 10.
4. Dayas, C.V., et al., *Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups*. Eur J Neurosci, 2001. **14**(7): p. 1143-52.
5. Carrasco, G.A. and L.D. Van de Kar, *Neuroendocrine pharmacology of stress*. Eur J Pharmacol, 2003. **463**(1-3): p. 235-72.
6. Lolait, S.J., et al., *The hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to stress in mice lacking functional vasopressin V1b receptors*. Endocrinology, 2007. **148**(2): p. 849-56.
7. Sawchenko, P.E., H.Y. Li, and A. Ericsson, *Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms*. Prog Brain Res, 2000. **122**: p. 61-78.
8. Williams, G., et al., *The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes*. Physiol Behav, 2001. **74**(4-5): p. 683-701.
9. Brunton, P.J. and J.A. Russell, *Attenuated hypothalamo-pituitary-adrenal axis responses to immune challenge during pregnancy: the neurosteroid opioid connection*. J Physiol, 2008. **586**(2): p. 369-75.
10. Harding, J.W., et al., *Release of angiotensins in paraventricular nucleus of rat in response to physiological and chemical stimuli*. Am J Physiol, 1992. **262**(1 Pt 2): p. F17-23.
11. Morimoto, A., N. Murakami, and Y. Sakata, *Changes in hypothalamic temperature modulate the neuronal response of the ventral thalamus to skin warming in rats*. J Physiol, 1988. **398**: p. 97-108.
12. Chaouloff, F., A. Hemar, and O. Manzoni, *Acute stress facilitates hippocampal CA1 metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression*. J Neurosci, 2007. **27**(27): p. 7130-5.
13. Chen, J.X., Y.T. Tang, and J.X. Yang, *Changes of glucocorticoid receptor and levels of CRF mRNA, POMC mRNA in brain of chronic immobilization stress rats*. Cell Mol Neurobiol, 2008. **28**(2): p. 237-44.
14. Hunter, R.G., et al., *Regulation of CART mRNA by stress and corticosteroids in the hippocampus and amygdala*. Brain Res, 2007. **1152**: p. 234-40.
15. McLaughlin, K.J., et al., *The effects of chronic stress on hippocampal morphology and function: an evaluation of chronic restraint paradigms*. Brain Res, 2007. **1161**: p. 56-64.
16. Maack, D.J., E. Buchanan, and J. Young, *Development and psychometric investigation of an inventory to assess fight, flight, and freeze tendencies: the fight, flight, freeze questionnaire*. Cogn Behav Ther, 2015. **44**(2): p. 117-27.
17. Bracha, H.S., *Freeze, flight, fight, fright, faint: adaptationist perspectives on the acute stress response spectrum*. CNS Spectr, 2004. **9**(9): p. 679-85.
18. Jarvik, L.F. and D. Russell, *Anxiety, aging and the third emergency reaction*. J Gerontol, 1979. **34**(2): p. 197-200.
19. Taylor, S.E., et al., *Biobehavioral responses to stress in females: tend-and-befriend, not fight-or-flight*. Psychol Rev, 2000. **107**(3): p. 411-29.
20. Scribner, K.A., et al., *Chronic streptozotocin diabetes in rats facilitates the acute stress response without altering pituitary or adrenal responsiveness to secretagogues*. Endocrinology, 1991. **129**(1): p. 99-108.
21. Willner, P., et al., *Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant*. Psychopharmacology (Berl), 1987. **93**(3): p. 358-64.
22. Aguilera, G., *Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress*. Front Neuroendocrinol, 1994. **15**(4): p. 321-50.
23. Aguilera, G. and C. Rabadan-Diehl, *Regulation of vasopressin V1b receptors in the anterior pituitary gland of the rat*. Exp Physiol, 2000. **85 Spec No**: p. 19S-26S.
24. Dallman, M.F., *Stress update Adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to chronic stress*. Trends Endocrinol Metab, 1993. **4**(2): p. 62-9.
25. Engelmann, M., R. Landgraf, and C.T. Wotjak, *The hypothalamic-neurohypophyseal system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: an old concept revisited*. Front Neuroendocrinol, 2004. **25**(3-4): p. 132-49.
26. Atrens, D.M. and J.A. Menendez, *Somatostatin and the paraventricular hypothalamus: modulation of energy balance*. Brain Res, 1993. **630**(1-2): p. 238-44.

27. Thorsell, A., *Brain neuropeptide Y and corticotropin-releasing hormone in mediating stress and anxiety*. Exp Biol Med (Maywood), 2010. **235**(10): p. 1163-7.
28. Aguilera, G., Q. Pham, and C. Rabadan-Diehl, *Regulation of pituitary vasopressin receptors during chronic stress: relationship to corticotroph responsiveness*. J Neuroendocrinol, 1994. **6**(3): p. 299-304.
29. Yoshida, N., et al., *Stressor-responsive central nesfatin-1 activates corticotropin-releasing hormone, noradrenaline and serotonin neurons and evokes hypothalamic-pituitary-adrenal axis*. Aging (Albany NY), 2010. **2**(11): p. 775-84.
30. Silverman, A.J., D.L. Hoffman, and E.A. Zimmerman, *The descending afferent connections of the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN)*. Brain Res Bull, 1981. **6**(1): p. 47-61.
31. Herman, J.P., et al., *Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness*. Front Neuroendocrinol, 2003. **24**(3): p. 151-80.
32. Herman, J.P. and W.E. Cullinan, *Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis*. Trends Neurosci, 1997. **20**(2): p. 78-84.
33. Cunningham, E.T., Jr. and P.E. Sawchenko, *Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion*. Trends Neurosci, 1991. **14**(9): p. 406-11.
34. Bundzikova, J., et al., *Response of substances co-expressed in hypothalamic magnocellular neurons to osmotic challenges in normal and Brattleboro rats*. Cell Mol Neurobiol, 2008. **28**(8): p. 1033-47.
35. Antoni, F.A., *Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor*. Endocr Rev, 1986. **7**(4): p. 351-78.
36. Nagashima, H., et al., *[Reduction and sensitization of CRH neuron in rat hypothalamic and extrahypothalamic regions after chronic variable stress]*. Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi, 2003. **23**(1): p. 21-8.
37. Zoumakis, E., et al., *Corticotropin releasing hormone (CRH) in normal and pregnant uterus: physiological implications*. Front Biosci, 1996. **1**: p. e1-8.
38. Lee, K.H., et al., *Cellular localization of the full-length isoform of the type 2 corticotropin releasing factor receptor in the postnatal mouse cerebellar cortex*. J Neurosci Res, 2007. **85**(9): p. 1996-2005.
39. Fekete, E.M., et al., *Social defeat stress activates medial amygdala cells that express type 2 corticotropin-releasing factor receptor mRNA*. Neuroscience, 2009. **162**(1): p. 5-13.
40. Behan, D.P., et al., *Neurobiology of corticotropin releasing factor (CRF) receptors and CRF-binding protein: implications for the treatment of CNS disorders*. Mol Psychiatry, 1996. **1**(4): p. 265-77.
41. Wong, M.L., et al., *Localization of urocortin messenger RNA in rat brain and pituitary*. Mol Psychiatry, 1996. **1**(4): p. 307-12.
42. Muller, M.B., et al., *Selective activation of the hypothalamic vasopressinergic system in mice deficient for the corticotropin-releasing hormone receptor 1 is dependent on glucocorticoids*. Endocrinology, 2000. **141**(11): p. 4262-9.
43. Muller, M.B., et al., *Limbic corticotropin-releasing hormone receptor 1 mediates anxiety-related behavior and hormonal adaptation to stress*. Nat Neurosci, 2003. **6**(10): p. 1100-7.
44. Preil, J., et al., *Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in mice deficient for CRH receptors 1 and 2*. Endocrinology, 2001. **142**(11): p. 4946-55.
45. Chida, D., et al., *Melanocortin 2 receptor is required for adrenal gland development, steroidogenesis, and neonatal gluconeogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(46): p. 18205-10.
46. Isales, C.M., M. Zaidi, and H.C. Blair, *ACTH is a novel regulator of bone mass*. Ann N Y Acad Sci, 2010. **1192**: p. 110-6.
47. Zhong, Q., et al., *Multiple melanocortin receptors are expressed in bone cells*. Bone, 2005. **36**(5): p. 820-31.
48. Zaidi, M., et al., *ACTH protects against glucocorticoid-induced osteonecrosis of bone*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(19): p. 8782-7.
49. Gláz, E., *Klinikai Endokrinológia I-II*. 1981, Budapest: Medicina Könyvkiadó.
50. Taugner, G. and W. Hasselbach, *[On the mechanism of catecholamine storage in the chromaffine granules of the adrenal medulla]*. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol Exp Pathol, 1966. **255**(3): p. 266-86.
51. Large, V., et al., *Human beta-2 adrenoceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function*. J Clin Invest, 1997. **100**(12): p. 3005-13.
52. Ahlquist, R.P., *A study of the adrenotropic receptors*. Am J Physiol, 1948. **153**(3): p. 586-600.
53. Sagrada, A., M.J. Fargeas, and L. Bueno, *Involvement of alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors in the postlaparotomy intestinal motor disturbances in the rat*. Gut, 1987. **28**(8): p. 955-9.

54. Schmitz, J.M., et al., *Renal alpha-1 and alpha-2 adrenergic receptors: biochemical and pharmacological correlations*. J Pharmacol Exp Ther, 1981. **219**(2): p. 400-6.
55. Edwards, A.V., *Aspects of autonomic and neuroendocrine function*. Equine Vet J Suppl, 1997(24): p. 109-17.
56. Bornstein, S.R., et al., *Effects of splanchnic nerve stimulation on the adrenal cortex may be mediated by chromaffin cells in a paracrine manner*. Endocrinology, 1990. **127**(2): p. 900-6.
57. Holzwarth, M.A., L.A. Cunningham, and N. Kleitman, *The role of adrenal nerves in the regulation of adrenocortical functions*. Ann N Y Acad Sci, 1987. **512**: p. 449-64.
58. Lustyik, G. and J. Szabo, *Determination of the numerical density of spherical and ellipsoidal particles in the adrenal zona glomerulosa, based on distribution measurements. I. Methods*. Exp Pathol (Jena), 1978. **15**(5): p. 260-70.
59. Long, J.A. and A.L. Jones, *Observations on the fine structure of the adrenal cortex of man*. Lab Invest, 1967. **17**(4): p. 355-70.
60. Ota, A., et al., *The effort-reward imbalance work-stress model and daytime salivary cortisol and dehydroepiandrosterone (DHEA) among Japanese women*. Sci Rep, 2014. **4**: p. 6402.
61. Nussdorfer, G.G., *[Histophysiology of the zona reticularis of the rat adrenal cortex. I. Fine structure]*. Boll Soc Ital Biol Sper, 1969. **45**(9): p. 581-2.
62. Taves, M.D., C.E. Gomez-Sanchez, and K.K. Soma, *Extra-adrenal glucocorticoids and mineralocorticoids: evidence for local synthesis, regulation, and function*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2011. **301**(1): p. E11-24.
63. Bouguen, G., et al., *Intestinal steroidogenesis*. Steroids, 2015.
64. Szabo, S., Y. Tache, and A. Somogyi, *The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: a retrospective 75 years after his landmark brief "letter" to the editor# of nature*. Stress, 2012. **15**(5): p. 472-8.
65. Fonyó, A. and E. Ligeti, *Az orvosi élettan tankönyve*. 2008.
66. Sapolsky, R.M., L.M. Romero, and A.U. Munck, *How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions*. Endocr Rev, 2000. **21**(1): p. 55-89.
67. Munck, A. and P.M. Guyre, *Glucocorticoid physiology, pharmacology and stress*. Adv Exp Med Biol, 1986. **196**: p. 81-96.
68. Sapolsky, R.M., *McEwen-Induced Modulation of Endocrine History: A Partial Review*. Stress, 1997. **2**(1): p. 1-12.
69. Chrousos, G.P., *Stress and sex versus immunity and inflammation*. Sci Signal, 2010. **3**(143): p. pe36.
70. Sorrells, S.F., et al., *The stressed CNS: when glucocorticoids aggravate inflammation*. Neuron, 2009. **64**(1): p. 33-9.
71. Wolf, O.T., *Stress and memory in humans: twelve years of progress?* Brain Res, 2009. **1293**: p. 142-54.
72. Gobinath, A.R., R. Mahmoud, and L.A. Galea, *Influence of sex and stress exposure across the lifespan on endophenotypes of depression: focus on behavior, glucocorticoids, and hippocampus*. Front Neurosci, 2014. **8**: p. 420.
73. Uchoa, E.T., et al., *Novel aspects of glucocorticoid actions*. J Neuroendocrinol, 2014. **26**(9): p. 557-72.
74. Wingensfeld, K. and O.T. Wolf, *Stress, memory, and the hippocampus*. Front Neurol Neurosci, 2014. **34**: p. 109-20.
75. Raison, C.L. and A.H. Miller, *When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders*. Am J Psychiatry, 2003. **160**(9): p. 1554-65.
76. Delahanty, D.L., A.J. Raimonde, and E. Spoonster, *Initial posttraumatic urinary cortisol levels predict subsequent PTSD symptoms in motor vehicle accident victims*. Biol Psychiatry, 2000. **48**(9): p. 940-7.
77. Pariante, C.M. and A.H. Miller, *Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment*. Biol Psychiatry, 2001. **49**(5): p. 391-404.
78. Holsboer, F., *The corticosteroid receptor hypothesis of depression*. Neuropsychopharmacology, 2000. **23**(5): p. 477-501.
79. Zelena, D. and B.G. Makara, *Szteroidok: A glükokortikoidok élettani és gyógyszeres hatásai*. Orvosi Hetilap, 2015.
80. Vinson, G.P., *The adrenal cortex and life*. Mol Cell Endocrinol, 2009. **300**(1-2): p. 2-6.
81. Yamakawa, M., et al., *Relationships of the molecular structure of aldosterone derivatives with their binding affinity for mineralocorticoid receptor*. Mol Pharmacol, 1986. **30**(6): p. 585-9.

82. Williams, J.S. and G.H. Williams, *50th anniversary of aldosterone*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(6): p. 2364-72.
83. Funder, J.W. and A.S. Mihailidou, *Aldosterone and mineralocorticoid receptors: Clinical studies and basic biology*. Mol Cell Endocrinol, 2009. **301**(1-2): p. 2-6.
84. Funder, J.W., *Minireview: Aldosterone and mineralocorticoid receptors: past, present, and future*. Endocrinology, 2010. **151**(11): p. 5098-102.
85. Nguyen Dinh Cat, A. and F. Jaisser, *Extrarenal effects of aldosterone*. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2012. **21**(2): p. 147-56.
86. Hlavacova, N., et al., *Subchronic treatment with aldosterone induces depression-like behaviours and gene expression changes relevant to major depressive disorder*. Int J Neuropsychopharmacol, 2012. **15**(2): p. 247-65.
87. Hlavacova, N., J. Bakos, and D. Jezova, *Eplerenone, a selective mineralocorticoid receptor blocker, exerts anxiolytic effects accompanied by changes in stress hormone release*. J Psychopharmacol, 2010. **24**(5): p. 779-86.
88. Franklin, M., et al., *Aldosterone increases earlier than corticosterone in new animal models of depression: is this an early marker?* J Psychiatr Res, 2012. **46**(11): p. 1394-7.
89. Franklin, M., et al., *Aldosterone Signals the Onset of Depressive Behaviour in a Female Rat Model of Depression along with SSRI Treatment Resistance*. Neuroendocrinology, 2015.
90. Jezova, D. and N. Hlavacova, *Endocrine factors in stress and psychiatric disorders: focus on anxiety and salivary steroids*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1148**: p. 495-503.
91. Buttner, M., et al., *Target-based biomarker selection - Mineralocorticoid receptor-related biomarkers and treatment outcome in major depression*. J Psychiatr Res, 2015. **66-67**: p. 24-37.
92. Murck, H., et al., *The renin-angiotensin-aldosterone system in patients with depression compared to controls--a sleep endocrine study*. BMC Psychiatry, 2003. **3**: p. 15.
93. Emanuele, E., et al., *Increased plasma aldosterone in patients with clinical depression*. Arch Med Res, 2005. **36**(5): p. 544-8.
94. Hendler, N.H., *Spironolactone prophylaxis in manic-depressive disease*. J Nerv Ment Dis, 1978. **166**(7): p. 517-20.
95. Funder, J.W., *Aldosterone and mineralocorticoid receptors in the cardiovascular system*. Prog Cardiovasc Dis, 2010. **52**(5): p. 393-400.
96. Zimmerman, R.S. and E.D. Frohlich, *Stress and hypertension*. J Hypertens Suppl, 1990. **8**(4): p. S103-7.
97. Funder, J.W. and M. Reincke, *Aldosterone: a cardiovascular risk factor?* Biochim Biophys Acta, 2010. **1802**(12): p. 1188-92.
98. Ma, T.K., et al., *Renin-angiotensin-aldosterone system blockade for cardiovascular diseases: current status*. Br J Pharmacol, 2010. **160**(6): p. 1273-92.
99. Moncek, F., G. Aguilera, and D. Jezova, *Insufficient activation of adrenocortical but not adrenomedullary hormones during stress in rats subjected to repeated immune challenge*. J Neuroimmunol, 2003. **142**(1-2): p. 86-92.
100. Messerli, F.H., et al., *Effects of ACTH on steroid metabolism*. J Clin Endocrinol Metab, 1976. **42**(6): p. 1074-80.
101. Hattangady, N.G., et al., *Acute and chronic regulation of aldosterone production*. Mol Cell Endocrinol, 2012. **350**(2): p. 151-62.
102. Miyabo, S., et al., *Normoreninemic hypoaldosteronism in a case of isolated ACTH deficiency*. Horm Res, 1989. **31**(4): p. 163-8.
103. Reul, J.M. and E.R. de Kloet, *Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation*. Endocrinology, 1985. **117**(6): p. 2505-11.
104. Rupprecht, R., et al., *Pharmacological and functional characterization of human mineralocorticoid and glucocorticoid receptor ligands*. Eur J Pharmacol, 1993. **247**(2): p. 145-54.
105. Aronsson, M., et al., *Localization of glucocorticoid receptor mRNA in the male rat brain by in situ hybridization*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. **85**(23): p. 9331-5.
106. Arriza, J.L., et al., *The neuronal mineralocorticoid receptor as a mediator of glucocorticoid response*. Neuron, 1988. **1**(9): p. 887-900.
107. Chao, H.M., P.H. Choo, and B.S. McEwen, *Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression in rat brain*. Neuroendocrinology, 1989. **50**(4): p. 365-71.
108. Evans, R.M. and J.L. Arriza, *A molecular framework for the actions of glucocorticoid hormones in the nervous system*. Neuron, 1989. **2**(2): p. 1105-12.

109. Zennaro, M.C., M. Caprio, and B. Feve, *Mineralocorticoid receptors in the metabolic syndrome*. Trends Endocrinol Metab, 2009. **20**(9): p. 444-51.
110. Marzolla, V., et al., *The role of the mineralocorticoid receptor in adipocyte biology and fat metabolism*. Mol Cell Endocrinol, 2012. **350**(2): p. 281-8.
111. Nicolaides, N.C., et al., *The human glucocorticoid receptor: molecular basis of biologic function*. Steroids, 2010. **75**(1): p. 1-12.
112. Joels, M. and E.R. de Kloet, *Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the brain. Implications for ion permeability and transmitter systems*. Prog Neurobiol, 1994. **43**(1): p. 1-36.
113. Webster, J.C. and J.A. Cidlowski, *Mechanisms of Glucocorticoid-receptor-mediated Repression of Gene Expression*. Trends Endocrinol Metab, 1999. **10**(10): p. 396-402.
114. Saklatvala, J., *Glucocorticoids: do we know how they work?* Arthritis Res, 2002. **4**(3): p. 146-50.
115. Oakley, R.H. and J.A. Cidlowski, *The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease*. J Allergy Clin Immunol, 2013. **132**(5): p. 1033-44.
116. Hallahan, C., D.A. Young, and A. Munck, *Time course of early events in the action of glucocorticoids on rat thymus cells in vitro. Synthesis and turnover of a hypothetical cortisol-induced protein inhibition of glucose metabolism and of a presumed ribonucleic acid*. J Biol Chem, 1973. **248**(8): p. 2922-7.
117. Haller, J., E. Mikics, and G.B. Makara, *The effects of non-genomic glucocorticoid mechanisms on bodily functions and the central neural system. A critical evaluation of findings*. Front Neuroendocrinol, 2008. **29**(2): p. 273-91.
118. Mikics, E., B. Barsy, and J. Haller, *The effect glucocorticoids on aggressiveness in established colonies of rats*. Psychoneuroendocrinology, 2007. **32**(2): p. 160-70.
119. Sandi, C., C. Venero, and C. Guaza, *Novelty-related rapid locomotor effects of corticosterone in rats*. Eur J Neurosci, 1996. **8**(4): p. 794-800.
120. Venero, C. and J. Borrell, *Rapid glucocorticoid effects on excitatory amino acid levels in the hippocampus: a microdialysis study in freely moving rats*. Eur J Neurosci, 1999. **11**(7): p. 2465-73.
121. Croxtall, J.D., Q. Choudhury, and R.J. Flower, *Glucocorticoids act within minutes to inhibit recruitment of signalling factors to activated EGF receptors through a receptor-dependent, transcription-independent mechanism*. Br J Pharmacol, 2000. **130**(2): p. 289-98.
122. Liu, X., C.A. Wang, and Y.Z. Chen, *Nongenomic effect of glucocorticoid on the release of arginine vasopressin from hypothalamic slices in rats*. Neuroendocrinology, 1995. **62**(6): p. 628-33.
123. Di, S., et al., *Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism*. J Neurosci, 2003. **23**(12): p. 4850-7.
124. Chen, Y.Z., et al., *An electrophysiological study on the membrane receptor-mediated action of glucocorticoids in mammalian neurons*. Neuroendocrinology, 1991. **53 Suppl 1**: p. 25-30.
125. Dooley, R., B.J. Harvey, and W. Thomas, *Non-genomic actions of aldosterone: from receptors and signals to membrane targets*. Mol Cell Endocrinol, 2012. **350**(2): p. 223-34.
126. Kadmiel, M. and J.A. Cidlowski, *Glucocorticoid receptor signaling in health and disease*. Trends Pharmacol Sci, 2013. **34**(9): p. 518-30.
127. Groeneweg, F.L., et al., *Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at the neuronal membrane, regulators of nongenomic corticosteroid signalling*. Mol Cell Endocrinol, 2012. **350**(2): p. 299-309.
128. Chai, W., et al., *Genomic and nongenomic effects of aldosterone in the rat heart: why is spironolactone cardioprotective?* Br J Pharmacol, 2005. **145**(5): p. 664-71.
129. Schulke, B. and G. Tegeler, *[Relationship between the quality of dietary proteins and the functional status of the adrenal cortex. Variations in the content of transcortin, free corticosterone and total corticosterone in the blood plasma of rats fed with proteins of various quality]*. Arch Tierernahr, 1975. **25**(6): p. 453-62.
130. Mendel, C.M., *The free hormone hypothesis: a physiologically based mathematical model*. Endocr Rev, 1989. **10**(3): p. 232-74.
131. Tinnikov, A.A., *Responses of serum corticosterone and corticosteroid-binding globulin to acute and prolonged stress in the rat*. Endocrine, 1999. **11**(2): p. 145-50.
132. Moisan, M.P., et al., *Role of corticosteroid binding globulin in the fast actions of glucocorticoids on the brain*. Steroids, 2014. **81**: p. 109-15.
133. Qureshi, A.C., et al., *The influence of the route of oestrogen administration on serum levels of cortisol-binding globulin and total cortisol*. Clin Endocrinol (Oxf), 2007. **66**(5): p. 632-5.
134. Katayama, S. and T. Yamaji, *A binding-protein for aldosterone in human plasma*. J Steroid Biochem, 1982. **16**(2): p. 185-92.

135. Coirini, H., et al., *Characteristics of aldosterone binding in rat and human serum*. Acta Physiol Lat Am, 1982. **32**(1): p. 1-10.
136. Naray-Fejes-Toth, A., I.K. Colombowala, and G. Fejes-Toth, *The role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in steroid hormone specificity*. J Steroid Biochem Mol Biol, 1998. **65**(1-6): p. 311-6.
137. van Uum, S.H., J.W. Lenders, and A.R. Hermus, *Cortisol, 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases, and hypertension*. Semin Vasc Med, 2004. **4**(2): p. 121-8.
138. Cincu, C. and A. Agrawal, *Cushing's Syndrome : an overview*. JNMA J Nepal Med Assoc, 2006. **45**(164): p. 375-80.
139. Gauer, S., V. Segitz, and M. Goppelt-Struebe, *Aldosterone induces CTGF in mesangial cells by activation of the glucocorticoid receptor*. Nephrol Dial Transplant, 2007. **22**(11): p. 3154-9.
140. Paarlberg, K.M., et al., *Psychosocial factors and pregnancy outcome: a review with emphasis on methodological issues*. J Psychosom Res, 1995. **39**(5): p. 563-95.
141. Van den Bergh, B.R., et al., *Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanisms. A review*. Neurosci Biobehav Rev, 2005. **29**(2): p. 237-58.
142. Sarfi, M., J.M. Sundet, and H. Waal, *Maternal stress and behavioral adaptation in methadone- or buprenorphine-exposed toddlers*. Infant Behav Dev, 2013. **36**(4): p. 707-16.
143. Copper, R.L., et al., *The preterm prediction study: maternal stress is associated with spontaneous preterm birth at less than thirty-five weeks' gestation*. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Am J Obstet Gynecol, 1996. **175**(5): p. 1286-92.
144. Del Giudice, M., *Fetal programming by maternal stress: Insights from a conflict perspective*. Psychoneuroendocrinology, 2012. **37**(10): p. 1614-29.
145. DiPietro, J.A., et al., *Maternal psychological distress during pregnancy in relation to child development at age two*. Child Dev, 2006. **77**(3): p. 573-87.
146. Zelena, D., *The Janus Face of Stress on Reproduction: From Health to Disease*,. International Journal of Endocrinology, 2015. **2015**: p. Article ID 458129
147. Sapolsky, R.M. and M.J. Meaney, *Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period*. Brain Res, 1986. **396**(1): p. 64-76.
148. Gunnar, M.R. and B. Donzella, *Social regulation of the cortisol levels in early human development*. Psychoneuroendocrinology, 2002. **27**(1-2): p. 199-220.
149. Penke, Z., et al., *Postnatal maternal deprivation produces long-lasting modifications of the stress response, feeding and stress-related behaviour in the rat*. Eur J Neurosci, 2001. **14**(4): p. 747-55.
150. Martin, C.E., et al., *Relationship between foetal corticosteroids, maternal progesterone and parturition in the rat*. Acta Endocrinol (Copenh), 1977. **84**(1): p. 167-76.
151. Walker, C.D., et al., *Ontogeny of the stress response in the rat: role of the pituitary and the hypothalamus*. Endocrinology, 1986. **118**(4): p. 1445-51.
152. Walker, S.J. and K.E. Vrana, *Pituitary corticotroph function during the stress hyporesponsive period in neonatal rats*. Neuroendocrinology, 1993. **57**(6): p. 1003-10.
153. Levine, S., *Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the neonatal rat: the role of maternal behavior*. Neurotox Res, 2002. **4**(5-6): p. 557-564.
154. Suchecki, D., P. Rosenfeld, and S. Levine, *Maternal regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the infant rat: the roles of feeding and stroking*. Brain Res Dev Brain Res, 1993. **75**(2): p. 185-92.
155. Grino, M., et al., *Onset of glucocorticoid responsiveness of anterior pituitary corticotrophs during development is scheduled by corticotropin-releasing factor*. Endocrinology, 1989. **124**(6): p. 2686-92.
156. Muret, L., et al., *Stimulation of adrenocorticotropin secretion by insulin-induced hypoglycemia in the developing rat involves arginine vasopressin but not corticotropin-releasing factor*. Endocrinology, 1992. **130**(5): p. 2725-32.
157. Avishai-Eliner, S., et al., *Effects of maternal and sibling deprivation on basal and stress induced hypothalamic-pituitary-adrenal components in the infant rat*. Neurosci Lett, 1995. **192**(1): p. 49-52.
158. <http://news.leiden.edu/news-2014/symposium-on-gendered-innovation.html>. 2014.
159. Penalzoa, C., et al., *Sex of the cell dictates its response: differential gene expression and sensitivity to cell death inducing stress in male and female cells*. FASEB J, 2009. **23**(6): p. 1869-79.
160. Walker, C.D., et al., *Suckling is a persistent stimulus to the adrenocortical system of the rat*. Endocrinology, 1992. **130**(1): p. 115-25.

161. da Costa, A.P., et al., *Hypothalamic and amygdaloid corticotropin-releasing hormone (CRH) and CRH receptor-1 mRNA expression in the stress-hyporesponsive late pregnant and early lactating rat*. Brain Res Mol Brain Res, 2001. **91**(1-2): p. 119-30.
162. Windle, R.J., et al., *Adaptive changes in basal and stress-induced HPA activity in lactating and post-lactating female rats*. Endocrinology, 2013. **154**(2): p. 749-61.
163. Altemus, M., et al., *Suppression of hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to stress in lactating women*. J Clin Endocrinol Metab, 1995. **80**(10): p. 2954-9.
164. Mezzacappa, E.S., et al., *Breast-feeding and maternal cardiovascular function*. Psychophysiology, 2001. **38**(6): p. 988-97.
165. Holmes, C.L., et al., *Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock*. Chest, 2001. **120**(3): p. 989-1002.
166. Ring, R.H., *The central vasopressinergic system: examining the opportunities for psychiatric drug development*. Curr Pharm Des, 2005. **11**(2): p. 205-25.
167. Nickel, C.H., R. Bingisser, and N.G. Morgenthaler, *The role of copeptin as a diagnostic and prognostic biomarker for risk stratification in the emergency department*. BMC Med, 2012. **10**: p. 7.
168. Kim, J.K. and R.W. Schrier, *Vasopressin processing defects in the Brattleboro rat: implications for hereditary central diabetes insipidus in humans?* Proc Assoc Am Physicians, 1998. **110**(5): p. 380-6.
169. Nagasaki, H., et al., *Two novel mutations in the coding region for neurophysin-II associated with familial central diabetes insipidus*. J Clin Endocrinol Metab, 1995. **80**(4): p. 1352-6.
170. Ideno, J., et al., *Persistent phenotypic correction of central diabetes insipidus using adeno-associated virus vector expressing arginine-vasopressin in Brattleboro rats*. Mol Ther, 2003. **8**(6): p. 895-902.
171. Katan, M. and M. Christ-Crain, *The stress hormone copeptin: a new prognostic biomarker in acute illness*. Swiss Med Wkly, 2010. **140**: p. w13101.
172. Yalta, K., et al., *Copeptin and cardiovascular disease: a review of a novel neurohormone*. Int J Cardiol, 2013. **167**(5): p. 1750-9.
173. Morgenthaler, N.G., *Copeptin: a biomarker of cardiovascular and renal function*. Congest Heart Fail, 2010. **16 Suppl 1**: p. S37-44.
174. Morawiec, B. and D. Kawecki, *Copeptin: a new marker in cardiology*. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2013. **14**(1): p. 19-25.
175. Marie-Luce, C., et al., *Effects of neural androgen receptor disruption on aggressive behavior, arginine vasopressin and galanin systems in the bed nucleus of stria terminalis and lateral septum*. Gen Comp Endocrinol, 2013. **188**: p. 218-25.
176. Arakawa, H., K. Arakawa, and T. Deak, *Oxytocin and vasopressin in the medial amygdala differentially modulate approach and avoidance behavior toward illness-related social odor*. Neuroscience, 2010. **171**(4): p. 1141-51.
177. Rood, B.D. and G.J. De Vries, *Vasopressin innervation of the mouse (Mus musculus) brain and spinal cord*. J Comp Neurol, 2011. **519**(12): p. 2434-74.
178. Gallo-Payet, N. and G. Guillon, *Regulation of adrenocortical function by vasopressin*. Horm Metab Res, 1998. **30**(6-7): p. 360-7.
179. Lim, A.T., et al., *Immunoreactive arginine-vasopressin in Brattleboro rat ovary*. Nature, 1984. **310**(5972): p. 61-4.
180. Kasson, B.G., E.Y. Adashi, and A.J. Hsueh, *Arginine vasopressin in the testis: an intragonadal peptide control system*. Endocr Rev, 1986. **7**(2): p. 156-68.
181. Friedmann, A.S., et al., *Biosynthesis of vasopressin by gastrointestinal cells of Brattleboro and Long-Evans rats*. Peptides, 1993. **14**(3): p. 607-12.
182. Du Vigneaud, V., *Hormones of the posterior pituitary gland: oxytocin and vasopressin*. Harvey Lect, 1954. **50**: p. 1-26.
183. Dale, H., *The Harveian Oration on SOME EPOCHS IN MEDICAL RESEARCH*. Br Med J, 1935. **2**(3903): p. 771-7.
184. Johnson, A.E., et al., *Localization and characterization of vasopressin binding sites in the rat brain using an iodinated linear AVP antagonist*. Brain Res, 1993. **622**(1-2): p. 9-16.
185. Antoni, F.A., et al., *Evidence that the effects of arginine-8-vasopressin (AVP) on pituitary corticotropin (ACTH) release are mediated by a novel type of receptor*. Peptides, 1984. **5**(3): p. 519-22.
186. Young, W.S., et al., *The vasopressin 1b receptor is prominent in the hippocampal area CA2 where it is unaffected by restraint stress or adrenalectomy*. Neuroscience, 2006. **143**(4): p. 1031-9.

187. Saito, M., et al., *Evidence that atypical vasopressin V(2) receptor in inner medulla of kidney is V(1B) receptor*. Eur J Pharmacol, 2000. **401**(3): p. 289-96.
188. Michell, R.H., C.J. Kirk, and M.M. Billah, *Hormonal stimulation of phosphatidylinositol breakdown with particular reference to the hepatic effects of vasopressin*. Biochem Soc Trans, 1979. **7**(5): p. 861-5.
189. Jard, S., et al., *Neurohypophyseal hormone receptor systems in brain and periphery*. Prog Brain Res, 1987. **72**: p. 173-87.
190. Kato, Y., et al., *Distribution and developmental changes in vasopressin V2 receptor mRNA in rat brain*. Differentiation, 1995. **59**(3): p. 163-9.
191. Zelena, D., *The Role of Vasopressin in Affective Disorders: Possible Targets of Intervention*. Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry, 2008. **8**: p. 275-285.
192. Zelena, D., *Vasopressin in health and disease with a focus on affective disorders*. Cent Nerv Syst Agents Med Chem, 2012. **12**(4): p. 286-303.
193. Beaulieu, M.J., *Vasopressin for the treatment of neonatal hypotension*. Neonatal Netw, 2013. **32**(2): p. 120-4.
194. Johnston, C.I., *Vasopressin in circulatory control and hypertension*. J Hypertens, 1985. **3**(6): p. 557-69.
195. Serradeil-Le Gal, C., et al., *Effect of a new, potent, non-peptide V1a vasopressin antagonist, SR 49059, on the binding and the mitogenic activity of vasopressin on Swiss 3T3 cells*. Biochem Pharmacol, 1994. **47**(4): p. 633-41.
196. Montero, S., et al., *Arginine-vasopressin mediates central and peripheral glucose regulation in response to carotid body receptor stimulation with Na-cyanide*. J Appl Physiol, 2006. **100**(6): p. 1902-9.
197. Tamma, R., et al., *Regulation of bone remodeling by vasopressin explains the bone loss in hyponatremia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(46): p. 18644-9.
198. Quintanar-Stephano, A., et al., *Effects of neurointermediate pituitary lobectomy and desmopressin on acute experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats*. Neuroimmunomodulation, 2012. **19**(3): p. 148-57.
199. Berczi, I., et al., *Vasopressin, oxytocin and immune function*. Advances in Neuroimmune Biology 2012. **3**: p. 329-343.
200. Richmond, C.A., *The role of arginine vasopressin in thermoregulation during fever*. J Neurosci Nurs, 2003. **35**(5): p. 281-6.
201. Yang, J., et al., *Arginine vasopressin is an important regulator in antinociceptive modulation of hypothalamic paraventricular nucleus in the rat*. Neuropeptides, 2007. **41**(3): p. 165-76.
202. Yang, J., et al., *Through V2, not V1 receptor relating to endogenous opiate peptides, arginine vasopressin in periaqueductal gray regulates antinociception in the rat*. Regul Pept, 2006. **137**(3): p. 156-61.
203. Buijs, R.M., *Intra- and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat. Pathways to the limbic system, medulla oblongata and spinal cord*. Cell Tissue Res, 1978. **192**(3): p. 423-35.
204. Dogterom, J., F.G. Snijdwint, and R.M. Buijs, *The distribution of vasopressin and oxytocin in the rat brain*. Neurosci Lett, 1978. **9**(4): p. 341-6.
205. Caldwell, H.K., et al., *Vasopressin: behavioral roles of an "original" neuropeptide*. Prog Neurobiol, 2008. **84**(1): p. 1-24.
206. DeBold, C.R., et al., *Arginine vasopressin potentiates adrenocorticotropin release induced by ovine corticotropin-releasing factor*. J Clin Invest, 1984. **73**(2): p. 533-8.
207. Yates, F.E., et al., *Potentiation by vasopressin of corticotropin release induced by corticotropin-releasing factor*. Endocrinology, 1971. **88**(1): p. 3-15.
208. Turkelson, C.M., et al., *In vitro potentiation of the activity of synthetic ovine corticotropin-releasing factor by arginine vasopressin*. Peptides, 1982. **3**(2): p. 111-3.
209. Labrie, F., et al., *Interactions between CRF, epinephrine, vasopressin and glucocorticoids in the control of ACTH secretion*. J Steroid Biochem, 1984. **20**(1): p. 153-60.
210. Minton, J.E., *Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals*. J Anim Sci, 1994. **72**(7): p. 1891-8.
211. Hisano, S., et al., *Intragranular colocalization of arginine vasopressin and methionine-enkephalin-octapeptide in CRF-axons in the rat median eminence*. Cell Tissue Res, 1987. **249**(3): p. 497-507.
212. !!! INVALID CITATION !!!
213. Ma, X.M., A. Levy, and S.L. Lightman, *Rapid changes in heteronuclear RNA for corticotrophin-releasing hormone and arginine vasopressin in response to acute stress*. J Endocrinol, 1997. **152**(1): p. 81-9.
214. Bartanusz, V., et al., *Stress-induced increase in vasopressin and corticotropin-releasing factor expression in hypophysiostrophic paraventricular neurons*. Endocrinology, 1993. **132**(2): p. 895-902.

215. Raadsheer, F.C., et al., *Localization of corticotropin-releasing hormone (CRH) neurons in the paraventricular nucleus of the human hypothalamus; age-dependent colocalization with vasopressin*. Brain Res, 1993. **615**(1): p. 50-62.
216. Holmes, M.C., et al., *Magnocellular axons in passage through the median eminence release vasopressin*. Nature, 1986. **319**(6051): p. 326-9.
217. Whitnall, M.H., D. Smyth, and H. Gainer, *Vasopressin coexists in half of the corticotropin-releasing factor axons present in the external zone of the median eminence in normal rats*. Neuroendocrinology, 1987. **45**(5): p. 420-4.
218. Laguna-Abreu, M.T., et al., *The effect of adrenalectomy on Fos expression in vasopressinergic and oxytocinergic neurons in response to stress in the rat*. Stress, 2007. **10**(4): p. 332-41.
219. Zelena, D., et al., *Vasopressin signaling at brain level controls stress hormone release: The vasopressin-deficient Brattleboro rat as a model*. Amino Acids, 2015: p. beküldve.
220. Tilders, F.J., et al., *Role of epinephrine and vasopressin in the control of the pituitary-adrenal response to stress*. Fed Proc, 1985. **44**(1 Pt 2): p. 155-60.
221. Ono, N., et al., *Role of arginine vasopressin in control of ACTH and LH release during stress*. Life Sci, 1985. **36**(18): p. 1779-86.
222. Tanoue, A., et al., *The vasopressin V1b receptor critically regulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity under both stress and resting conditions*. J Clin Invest, 2004. **113**(2): p. 302-9.
223. Lolait, S.J., et al., *Attenuated stress response to acute lipopolysaccharide challenge and ethanol administration in vasopressin V1b receptor knockout mice*. J Neuroendocrinol, 2007. **19**(7): p. 543-51.
224. Serradeil-Le Gal, C., et al., *Characterization of (2S,4R)-1-[5-chloro-1-[(2,4-dimethoxyphenyl)sulfonyl]-3-(2-methoxy-phenyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-indol-3-yl]-4-hydroxy-N,N-dimethyl-2-pyrrolidine carboxamide (SSR149415), a selective and orally active vasopressin V1b receptor antagonist*. J Pharmacol Exp Ther, 2002. **300**(3): p. 1122-30.
225. Ramos, A.T., L.R. Troncone, and S. Tufik, *Suppression of adrenocorticotrophic hormone secretion by simultaneous antagonism of vasopressin 1b and CRH-1 receptors on three different stress models*. Neuroendocrinology, 2006. **84**(5): p. 309-16.
226. Makara, G.B., Z. Mergl, and D. Zelena, *The role of vasopressin in hypothalamo-pituitary-adrenal axis activation during stress: an assessment of the evidence*. Ann N Y Acad Sci, 2004. **1018**: p. 151-61.
227. Saborio, P., G.A. Tipton, and J.C. Chan, *Diabetes insipidus*. Pediatr Rev, 2000. **21**(4): p. 122-9; quiz 129.
228. Kalelioglu, I., et al., *Transient gestational diabetes insipidus diagnosed in successive pregnancies: review of pathophysiology, diagnosis, treatment, and management of delivery*. Pituitary, 2007. **10**(1): p. 87-93.
229. Iwasaki, Y., et al., *Effects of various mutations in the neurophysin/glycopeptide portion of the vasopressin gene on vasopressin expression in vitro*. Tohoku J Exp Med, 2000. **191**(4): p. 187-202.
230. Babey, M., P. Kopp, and G.L. Robertson, *Familial forms of diabetes insipidus: clinical and molecular characteristics*. Nat Rev Endocrinol, 2011. **7**(12): p. 701-14.
231. Koufaris, C., et al., *Identification of an AVP-NPII mutation within the AVP moiety in a family with neurohypophyseal diabetes insipidus: review of the literature*. Hormones (Athens), 2015. **14**(3): p. 442-6.
232. Milutinovic-Smiljanic, S., et al., *Evidence for involvement of central vasopressin V1b and V2 receptors in stress-induced baroreflex desensitization*. Br J Pharmacol, 2013. **169**(4): p. 900-8.
233. Lavigne, D., *Vasopressin and methylene blue: alternate therapies in vasodilatory shock*. Semin Cardiothorac Vasc Anesth, 2010. **14**(3): p. 186-9.
234. Cardenas, A. and P. Gines, *Portal hypertension*. Curr Opin Gastroenterol, 2009. **25**(3): p. 195-201.
235. Schrier, R.W. and S. Bansal, *Pulmonary hypertension, right ventricular failure, and kidney: different from left ventricular failure?* Clin J Am Soc Nephrol, 2008. **3**(5): p. 1232-7.
236. Schrier, R.W., A. Masoumi, and E. Elhassan, *Role of vasopressin and vasopressin receptor antagonists in type I cardiorenal syndrome*. Blood Purif, 2009. **27**(1): p. 28-32.
237. Bankir, L., D.G. Bichet, and N. Bouby, *Vasopressin V2 receptors, ENaC, and sodium reabsorption: a risk factor for hypertension?* Am J Physiol Renal Physiol, 2010. **299**(5): p. F917-28.
238. Saleem, U., et al., *Plasma carboxy-terminal provasopressin (copeptin): a novel marker of insulin resistance and metabolic syndrome*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(7): p. 2558-64.
239. Enhorning, S., et al., *Plasma copeptin and the risk of diabetes mellitus*. Circulation, 2010. **121**(19): p. 2102-8.
240. Willinger, M.G., et al., *A case of strong metal-support interactions: combining advanced microscopy and model systems to elucidate the atomic structure of interfaces*. Angew Chem Int Ed Engl, 2014. **53**(23): p. 5998-6001.

241. Mavani, G.P., M.V. DeVita, and M.F. Michelis, *A review of the nonpressor and nonantidiuretic actions of the hormone vasopressin*. Front Med (Lausanne), 2015. **2**: p. 19.
242. Surget, A. and C. Belzung, *Involvement of vasopressin in affective disorders*. Eur J Pharmacol, 2008. **583**(2-3): p. 340-9.
243. Zelena, D., O.Y. Morozova, and L.P. Filaretova, *Age-dependent role of vasopressin in susceptibility of gastric mucosa to indomethacin-induced injury*. In Cell/Tissue Injury and Cytoprotection/ Organoprotection in the Gastrointestinal Tract - Mechanisms, Prevention & Treatment, Frontiers of Gastrointestinal Research, Editor: C. Sakamoto, Karger, 2012. **30**: p. 219-229.
244. Zelena, D. and L. Filaretova, *Age-dependent role of vasopressin in susceptibility of gastric mucosa to indomethacin-induced injury*. Regul Pept, 2010. **161**(1-3): p. 15-21.
245. Laszlo, F., et al., *Aggressive role of vasopressin in development of different gastric lesions in rats*. Eur J Pharmacol, 1994. **258**(1-2): p. 15-22.
246. Laszlo, F., et al., *The role of vasopressin in the pathogenesis of ethanol-induced gastric hemorrhagic erosions in rats. Is vasopressin an endogenous aggressor toward the gastric mucosa?* Gastroenterology, 1991. **101**(5): p. 1242-8.
247. Sugimoto, I., et al., *Protective effect of a vasopressin-1 selective antagonist, OPC-21268, against ethanol-induced damage of the rat gastric wall*. Dig Dis Sci, 1999. **44**(3): p. 503-9.
248. Pavo, I., et al., *Vasopressin deficiency decreases the frequency of gastroduodenal ulceration in humans*. J Physiol Paris, 2000. **94**(1): p. 63-6.
249. Kowalewski, K., *Vascular factor in the etiology of posthistaminic gastric ulcer in guinea pig. Protective action of synthetic vasopressin analogue octapressin*. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1967. **170**(1): p. 66-73.
250. Kowalewski, K., et al., *Effect of posterior pituitary extract on the development of posthistaminic gastric ulcers in dogs*. Can J Biochem Physiol, 1958. **36**(9): p. 977-83.
251. Murphy, H.M. and C.H. Wideman, *Vasopressin, corticosterone levels, and gastric ulcers during food-restriction stress*. Peptides, 1992. **13**(2): p. 373-6.
252. Wideman, C.H. and H.M. Murphy, *Effects of vasopressin replacement during food-restriction stress*. Peptides, 1991. **12**(2): p. 285-8.
253. Honda, K., et al., *Role of endogenous vasopressin in development of gastric ulcer induced by restraint and water immersion*. Am J Physiol, 1994. **266**(5 Pt 2): p. R1448-53.
254. Buyukcokkun, N.I. and K. Ozluk, *Role of intracerebroventricular vasopressin in the development of stress-induced gastric lesions in rats*. Physiol Res, 1999. **48**(6): p. 451-5.
255. Gyires, K. and I. Barna, *Differences in gastroprotective processes in 6- to 8- and 14- to 16-week-old rats*. Dig Dis Sci, 2002. **47**(12): p. 2775-82.
256. Wigger, A., et al., *Alterations in central neuropeptide expression, release, and receptor binding in rats bred for high anxiety: critical role of vasopressin*. Neuropsychopharmacology, 2004. **29**(1): p. 1-14.
257. Landgraf, R., *The involvement of the vasopressin system in stress-related disorders*. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2006. **5**(2): p. 167-79.
258. Bunck, M., et al., *A hypomorphic vasopressin allele prevents anxiety-related behavior*. PLoS One, 2009. **4**(4): p. e5129.
259. Bielsky, I.F., et al., *Profound impairment in social recognition and reduction in anxiety-like behavior in vasopressin V1a receptor knockout mice*. Neuropsychopharmacology, 2004. **29**(3): p. 483-93.
260. Egashira, N., et al., *New topics in vasopressin receptors and approach to novel drugs: role of the vasopressin receptor in psychological and cognitive functions*. J Pharmacol Sci, 2009. **109**(1): p. 44-9.
261. Bielsky, I.F., et al., *The V1a vasopressin receptor is necessary and sufficient for normal social recognition: a gene replacement study*. Neuron, 2005. **47**(4): p. 503-13.
262. Landgraf, R., et al., *VI vasopressin receptor antisense oligodeoxynucleotide into septum reduces vasopressin binding, social discrimination abilities, and anxiety-related behavior in rats*. J Neurosci, 1995. **15**(6): p. 4250-8.
263. Liebsch, G., et al., *Septal vasopressin modulates anxiety-related behaviour in rats*. Neurosci Lett, 1996. **217**(2-3): p. 101-4.
264. Ebner, K., et al., *Vasopressin released within the septal brain area during swim stress modulates the behavioural stress response in rats*. Eur J Neurosci, 1999. **11**(3): p. 997-1002.
265. Inder, W.J., et al., *Arginine vasopressin is associated with hypercortisolemia and suicide attempts in depression*. Biol Psychiatry, 1997. **42**(8): p. 744-7.
266. van Londen, L., et al., *Plasma levels of arginine vasopressin elevated in patients with major depression*. Neuropsychopharmacology, 1997. **17**(4): p. 284-92.

267. de Winter, R.F., et al., *Anxious-retarded depression: relation with plasma vasopressin and cortisol*. Neuropsychopharmacology, 2003. **28**(1): p. 140-7.
268. Merali, Z., et al., *Corticotropin-releasing hormone, arginine vasopressin, gastrin-releasing peptide, and neuromedin B alterations in stress-relevant brain regions of suicides and control subjects*. Biol Psychiatry, 2006. **59**(7): p. 594-602.
269. Purba, J.S., et al., *Increased number of vasopressin- and oxytocin-expressing neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in depression*. Arch Gen Psychiatry, 1996. **53**(2): p. 137-43.
270. Meynen, G., et al., *Increased arginine vasopressin mRNA expression in the human hypothalamus in depression: A preliminary report*. Biol Psychiatry, 2006. **60**(8): p. 892-5.
271. Brunner, J., et al., *Vasopressin in CSF and plasma in depressed suicide attempters: preliminary results*. Eur Neuropsychopharmacol, 2002. **12**(5): p. 489-94.
272. van West, D., et al., *A major SNP haplotype of the arginine vasopressin 1B receptor protects against recurrent major depression*. Mol Psychiatry, 2004. **9**(3): p. 287-92.
273. Griebel, G., S. Beeske, and S.M. Stahl, *The vasopressin V(1b) receptor antagonist SSR149415 in the treatment of major depressive and generalized anxiety disorders: results from 4 randomized, double-blind, placebo-controlled studies*. J Clin Psychiatry, 2012. **73**(11): p. 1403-11.
274. Serradeil-Le Gal, C., et al., *An overview of SSR149415, a selective nonpeptide vasopressin V(1b) receptor antagonist for the treatment of stress-related disorders*. CNS Drug Rev, 2005. **11**(1): p. 53-68.
275. Overstreet, D.H. and G. Griebel, *Antidepressant-like effects of the vasopressin V1b receptor antagonist SSR149415 in the Flinders Sensitive Line rat*. Pharmacol Biochem Behav, 2005. **82**(1): p. 223-7.
276. Breuer, M.E., et al., *SSR149415, a non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, has long-lasting antidepressant effects in the olfactory bulbectomy-induced hyperactivity depression model*. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2009. **379**(1): p. 101-6.
277. Fodor, A., et al., *Maternal neglect with reduced depressive-like behavior and blunted c-fos activation in Brattleboro mothers, the role of central vasopressin*. Horm Behav, 2012. **62**(4): p. 539-51.
278. Haller, J., J. van de Schraaf, and M.R. Kruk, *Deviant forms of aggression in glucocorticoid hyporeactive rats: a model for 'pathological' aggression?* J Neuroendocrinol, 2001. **13**(1): p. 102-7.
279. Toth, M., et al., *Early social deprivation induces disturbed social communication and violent aggression in adulthood*. Behav Neurosci, 2008. **122**(4): p. 849-54.
280. Ferris, C.F. and M. Potegal, *Vasopressin receptor blockade in the anterior hypothalamus suppresses aggression in hamsters*. Physiol Behav, 1988. **44**(2): p. 235-9.
281. Ferris, C.F., et al., *Vasopressin/serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters*. J Neurosci, 1997. **17**(11): p. 4331-40.
282. Haller, J., *The neurobiology of abnormal manifestations of aggression--a review of hypothalamic mechanisms in cats, rodents, and humans*. Brain Res Bull, 2013. **93**: p. 97-109.
283. Beiderbeck, D.I., I.D. Neumann, and A.H. Veenema, *Differences in intermale aggression are accompanied by opposite vasopressin release patterns within the septum in rats bred for low and high anxiety*. Eur J Neurosci, 2007. **26**(12): p. 3597-605.
284. Bosch, O.J., *Maternal aggression in rodents: brain oxytocin and vasopressin mediate pup defence*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2013. **368**(1631): p. 20130085.
285. Cordero, M.I., F. Ansermet, and C. Sandi, *Long-term programming of enhanced aggression by peripuberty stress in female rats*. Psychoneuroendocrinology, 2013. **38**(11): p. 2758-69.
286. Gobrogge, K.L., et al., *Anterior hypothalamic vasopressin regulates pair-bonding and drug-induced aggression in a monogamous rodent*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(45): p. 19144-9.
287. Neumann, I.D., A.H. Veenema, and D.I. Beiderbeck, *Aggression and anxiety: social context and neurobiological links*. Front Behav Neurosci, 2010. **4**: p. 12.
288. Veenema, A.H., et al., *Distinct correlations of vasopressin release within the lateral septum and the bed nucleus of the stria terminalis with the display of intermale aggression*. Horm Behav, 2010. **58**(2): p. 273-81.
289. Compaa, J.C., et al., *Differential lateral septal vasopressin innervation in aggressive and nonaggressive male mice*. Brain Res Bull, 1993. **30**(1-2): p. 1-6.
290. Bosch, O.J. and I.D. Neumann, *Both oxytocin and vasopressin are mediators of maternal care and aggression in rodents: from central release to sites of action*. Horm Behav, 2012. **61**(3): p. 293-303.
291. Nephew, B.C., E.M. Byrnes, and R.S. Bridges, *Vasopressin mediates enhanced offspring protection in multiparous rats*. Neuropharmacology, 2010. **58**(1): p. 102-6.

292. Carrillo, M., L.A. Ricci, and R.H. Melloni, *Glutamate-vasopressin interactions and the neurobiology of anabolic steroid-induced offensive aggression*. Neuroscience, 2011. **185**: p. 85-96.
293. Cervantes, M.C. and Y. Delville, *Individual differences in offensive aggression in golden hamsters: a model of reactive and impulsive aggression?* Neuroscience, 2007. **150**(3): p. 511-21.
294. Griebel, G., et al., *Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(9): p. 6370-5.
295. Cheng, S.Y. and Y. Delville, *Vasopressin facilitates play fighting in juvenile golden hamsters*. Physiol Behav, 2009. **98**(1-2): p. 242-6.
296. Caldwell, H.K. and W.S. Young, 3rd, *Persistence of reduced aggression in vasopressin 1b receptor knockout mice on a more "wild" background*. Physiol Behav, 2009. **97**(1): p. 131-4.
297. Stevenson, E.L. and H.K. Caldwell, *The vasopressin 1b receptor and the neural regulation of social behavior*. Horm Behav, 2012. **61**(3): p. 277-82.
298. Caughey, S.D., et al., *Changes in the intensity of maternal aggression and central oxytocin and vasopressin V1a receptors across the peripartum period in the rat*. J Neuroendocrinol, 2011. **23**(11): p. 1113-24.
299. Zai, C.C., et al., *Possible genetic association between vasopressin receptor 1B and child aggression*. Psychiatry Res, 2012. **200**(2-3): p. 784-8.
300. Coccaro, E.F., et al., *Cerebrospinal fluid vasopressin levels: correlates with aggression and serotonin function in personality-disordered subjects*. Arch Gen Psychiatry, 1998. **55**(8): p. 708-14.
301. Kelly, A.M. and J.L. Goodson, *Functional significance of a phylogenetically widespread sexual dimorphism in vasotocin/vasopressin production*. Horm Behav, 2013. **64**(5): p. 840-6.
302. Delville, Y., R.H. Melloni, Jr., and C.F. Ferris, *Behavioral and neurobiological consequences of social subjugation during puberty in golden hamsters*. J Neurosci, 1998. **18**(7): p. 2667-72.
303. Scarpa, A. and A. Raine, *Psychophysiology of anger and violent behavior*. Psychiatr Clin North Am, 1997. **20**(2): p. 375-94.
304. Solanto, M.V., et al., *The ecological validity of delay aversion and response inhibition as measures of impulsivity in AD/HD: a supplement to the NIMH multimodal treatment study of AD/HD*. J Abnorm Child Psychol, 2001. **29**(3): p. 215-28.
305. Evenden, J.L. and C.N. Ryan, *The pharmacology of impulsive behaviour in rats: the effects of drugs on response choice with varying delays of reinforcement*. Psychopharmacology (Berl), 1996. **128**(2): p. 161-70.
306. Kim, S. and D. Lee, *Prefrontal cortex and impulsive decision making*. Biol Psychiatry, 2011. **69**(12): p. 1140-6.
307. Aron, A.R., *The neural basis of inhibition in cognitive control*. Neuroscientist, 2007. **13**(3): p. 214-28.
308. Tobin, V.A., et al., *An intrinsic vasopressin system in the olfactory bulb is involved in social recognition*. Nature, 2010. **464**(7287): p. 413-7.
309. Engelmann, M., *Vasopressin in the septum: not important versus causally involved in learning and memory--two faces of the same coin?* Prog Brain Res, 2008. **170**: p. 389-95.
310. Yehuda, R., et al., *Alterations in cortisol negative feedback inhibition as examined using the ACTH response to cortisol administration in PTSD*. Psychoneuroendocrinology, 2006. **31**(4): p. 447-51.
311. de Kloet, C.S., et al., *Elevated plasma arginine vasopressin levels in veterans with posttraumatic stress disorder*. J Psychiatr Res, 2008. **42**(3): p. 192-8.
312. Altemus, M., et al., *Abnormalities in the regulation of vasopressin and corticotropin releasing factor secretion in obsessive-compulsive disorder*. Arch Gen Psychiatry, 1992. **49**(1): p. 9-20.
313. Elman, I., et al., *Effects of acute metabolic stress on the peripheral vasopressinergic system in schizophrenia*. J Psychopharmacol, 2003. **17**(3): p. 317-23.
314. Linkowski, P., et al., *Cerebrospinal fluid neurophysins in affective illness and in schizophrenia*. Eur Arch Psychiatry Neurol Sci, 1984. **234**(3): p. 162-5.
315. Verghese, C., J. de Leon, and R.C. Josiassen, *Problems and progress in the diagnosis and treatment of polydipsia and hyponatremia*. Schizophr Bull, 1996. **22**(3): p. 455-64.
316. Sarai, M. and H. Matsunaga, *ADH secretion in schizophrenic patients on antipsychotic drugs*. Biol Psychiatry, 1989. **26**(6): p. 576-80.
317. Ohsawa, H., et al., *Atrial natriuretic peptide and arginine vasopressin secretion in schizophrenic patients*. Acta Psychiatr Scand, 1993. **88**(2): p. 130-4.
318. Frederiksen, S.O., et al., *Reduced concentrations of galanin, arginine vasopressin, neuropeptide Y and peptide YY in the temporal cortex but not in the hypothalamus of brains from schizophrenics*. Acta Psychiatr Scand, 1991. **83**(4): p. 273-7.

319. Bakharev, V.D., et al., *[Use of vasopressin the treatment of the paranoid form of schizophrenia]*. Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova, 1984. **84**(1): p. 88-92.
320. Brambilla, F., et al., *Vasopressin (DDAVP) therapy in chronic schizophrenia: effects on negative symptoms and memory*. Neuropsychobiology, 1989. **20**(3): p. 113-9.
321. Sawyer, W.H., H. Valtin, and H.W. Sokol, *Neurohypophysial Principles in Rats with Familial Hypothalamic Diabetes Insipidus (Brattleboro Strain)*. Endocrinology, 1964. **74**: p. 153-5.
322. Valtin, H., *The discovery of the Brattleboro rat, recommended nomenclature, and the question of proper controls*. Ann N Y Acad Sci, 1982. **394**: p. 1-9.
323. Schmale, H. and D. Richter, *Single base deletion in the vasopressin gene is the cause of diabetes insipidus in Brattleboro rats*. Nature, 1984. **308**(5961): p. 705-9.
324. Schmale, H., et al., *The mutant vasopressin gene from diabetes insipidus (Brattleboro) rats is transcribed but the message is not efficiently translated*. EMBO J, 1984. **3**(13): p. 3289-93.
325. Trinh-Trang-Tan, M.M., et al., *Homozygous Brattleboro rats lack normal nephron heterogeneity as a consequence of their urine concentrating defect*. Ann N Y Acad Sci, 1982. **394**: p. 524-8.
326. Zelena, D., Z. Mergl, and G.B. Makara, *Maternal genotype influences stress reactivity of vasopressin-deficient brattleboro rats*. J Neuroendocrinol, 2003. **15**(12): p. 1105-10.
327. Bohus, B. and D. de Wied, *The vasopressin deficient Brattleboro rats: a natural knockout model used in the search for CNS effects of vasopressin*. Prog Brain Res, 1998. **119**: p. 555-73.
328. Zelena, D., Z. Mergl, and G.B. Makara, *Maternal genotype can influence the outcome of a study on mutant animals*. Ann N Y Acad Sci, 2004. **1018**: p. 477-9.
329. Valtin, H. and H.A. Schroeder, *FAMILIAL HYPOTHALAMIC DIABETES INSIPIDUS IN RATS (BRATTLEBORO STRAIN)*. Am J Physiol, 1964. **206**: p. 425-30.
330. Lolait, S.J., et al., *Anterior pituitary cells from Brattleboro (di/di), Long-Evans and Sprague-Dawley rats contain immunoreactive arginine vasopressin*. Neuroendocrinology, 1986. **43**(5): p. 577-83.
331. Brudieux, R., M.N. Krifi, and J.P. Laulin, *Release of aldosterone and corticosterone from the adrenal cortex of the Brattleboro rat in response to administration of ACTH*. J Endocrinol, 1986. **111**(3): p. 375-81.
332. Eckland, D.J., K. Todd, and S.L. Lightman, *Immunoreactive vasopressin and oxytocin in hypothalamo-hypophysial portal blood of the Brattleboro and Long-Evans rat: effect of adrenalectomy and dexamethasone*. J Endocrinol, 1988. **117**(1): p. 27-34.
333. Burgess, W.J. and R.J. Balment, *Plasma atrial natriuretic peptide in vasopressin deficiency: the effects of acute water deprivation in rats*. J Endocrinol, 1992. **135**(3): p. 431-8.
334. Zelena, D., et al., *Effects of repeated restraint stress on hypothalamo-pituitary-adrenocortical function in vasopressin deficient Brattleboro rats*. Brain Res Bull, 2004. **63**(6): p. 521-30.
335. Mlynarik, M., et al., *Signs of attenuated depression-like behavior in vasopressin deficient Brattleboro rats*. Horm Behav, 2007. **51**(3): p. 395-405.
336. Domokos, A., et al., *Congenital vasopressin deficiency and acute and chronic opiate effects on hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity in Brattleboro rats*. J Endocrinol, 2008. **196**(1): p. 113-21.
337. Kjaer, A., et al., *Impaired histamine- and stress-induced secretion of ACTH and beta-endorphin in vasopressin-deficient Brattleboro rats*. Neuroendocrinology, 1993. **57**(6): p. 1035-41.
338. Zelena, D., et al., *Congenital absence of vasopressin and age-dependent changes in ACTH and corticosterone stress responses in rats*. Stress, 2011. **14**(4): p. 420-30.
339. Engeland, W.C., et al., *Circadian patterns of stress-induced ACTH secretion are modified by corticosterone responses*. Endocrinology, 1977. **100**(1): p. 138-47.
340. Keenan, D.M., F. Roelfsema, and J.D. Veldhuis, *Endogenous ACTH concentration-dependent drive of pulsatile cortisol secretion in the human*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2004. **287**(4): p. E652-61.
341. Zelena, D., et al., *The stimuli-specific role of vasopressin in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis response to stress*. J Endocrinol, 2009. **202**(2): p. 263-78.
342. Zelena, D., et al., *Control of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the neonatal period: adrenocorticotropin and corticosterone stress responses dissociate in vasopressin-deficient brattleboro rats*. Endocrinology, 2008. **149**(5): p. 2576-83.
343. Bornstein, S.R., et al., *Dissociation of ACTH and glucocorticoids*. Trends Endocrinol Metab, 2008. **19**(5): p. 175-80.
344. Sundaresan, P.R., M.M. Guarnaccia, and J.L. Izzo, Jr., *Adrenal medullary regulation of rat renal cortical adrenergic receptors*. Am J Physiol, 1987. **253**(5 Pt 2): p. F1063-7.

345. Mazzocchi, G., G. Gottardo, and G.G. Nussdorfer, *Catecholamines stimulate steroid secretion of dispersed fowl adrenocortical cells, acting through the beta-receptor subtype*. Horm Metab Res, 1997. **29**(4): p. 190-2.
346. Rao, N.V., et al., *Neuropeptide Y and glucocorticoid secretion from guinea pig adrenal gland: an in vivo and in vitro study*. Int J Mol Med, 2007. **20**(3): p. 345-9.
347. Dimitsantos, E., et al., *Litter size affects emotionality in adult male rats*. Physiol Behav, 2007. **92**(4): p. 708-16.
348. Moore, C.L. and G.A. Morelli, *Mother rats interact differently with male and female offspring*. J Comp Physiol Psychol, 1979. **93**(4): p. 677-84.
349. Richmond, G. and B.D. Sachs, *Maternal discrimination of pup sex in rats*. Dev Psychobiol, 1984. **17**(1): p. 87-9.
350. Alleva, E., A. Caprioli, and G. Laviola, *Litter gender composition affects maternal behavior of the primiparous mouse dam (Mus musculus)*. J Comp Psychol, 1989. **103**(1): p. 83-7.
351. Horn, T.F. and M. Engelmann, *In vivo microdialysis for nonapeptides in rat brain--a practical guide*. Methods, 2001. **23**(1): p. 41-53.
352. Zelena, D., et al., *Vasopressin administration into the paraventricular nucleus normalizes plasma oxytocin and corticosterone levels in Brattleboro rats*. Endocrinology, 2009. **150**(6): p. 2791-8.
353. Paxinos, G. and C. Watson, *The Rat Brain in stereotaxic coordinates*. 4th ed. 1998, San Diego, California 92101-4495, USA: Academic Press.
354. Balazsfi, D., et al., *Restoration of peripheral V2 receptor vasopressin signaling fails to correct behavioral changes in Brattleboro rats*. Psychoneuroendocrinology, 2015. **51**: p. 11-23.
355. Zelena, D., et al., *Alpha 2-adrenoreceptor subtypes regulate ACTH and beta-endorphin secretions during stress in the rat*. Psychoneuroendocrinology, 1999. **24**(3): p. 333-43.
356. Ansurudeen, I., et al., *Endothelial cell-mediated regulation of aldosterone release from human adrenocortical cells*. Mol Cell Endocrinol, 2007. **265-266**: p. 150-6.
357. Shanks, N. and M.J. Meaney, *Hypothalamic-pituitary-adrenal activation following endotoxin administration in the developing rat: a CRH-mediated effect*. J Neuroendocrinol, 1994. **6**(4): p. 375-83.
358. Kovacs, K.J., *c-Fos as a transcription factor: a stressful (re)view from a functional map*. Neurochem Int, 1998. **33**(4): p. 287-97.
359. Sterrenburg, L., et al., *Acute ether stress differentially affects corticotropin-releasing factor and urocortin 1 in the Brattleboro rat*. Brain Res, 2011. **1398**: p. 21-9.
360. Varga, J., et al., *Comparison of stress-induced changes in adults and pups: is aldosterone the main adrenocortical stress hormone during the perinatal period in rats?* PLoS One, 2013. **8**(9): p. e72313.
361. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen, *Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method*. Methods, 2001. **25**(4): p. 402-8.
362. Pellow, S., et al., *Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat*. J Neurosci Methods, 1985. **14**(3): p. 149-67.
363. Porsolt, R.D., A. Bertin, and M. Jalfre, *Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants*. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1977. **229**(2): p. 327-36.
364. Pinter, O., et al., *Do stress hormones connect environmental effects with behavior in the forced swim test?* Endocr J, 2011. **58**(5): p. 395-407.
365. Zhang, H., et al., *Endogenous opioids upregulate brain-derived neurotrophic factor mRNA through delta- and micro-opioid receptors independent of antidepressant-like effects*. Eur J Neurosci, 2006. **23**(4): p. 984-94.
366. Hung, C.J., et al., *Depression-like effect of prenatal buprenorphine exposure in rats*. PLoS One, 2013. **8**(12): p. e82262.
367. Iguchi, Y., et al., *Repeated exposure of adult rats to transient oxidative stress induces various long-lasting alterations in cognitive and behavioral functions*. PLoS One, 2014. **9**(12): p. e114024.
368. Armario, A., A. Gavalda, and O. Marti, *Forced swimming test in rats: effect of desipramine administration and the period of exposure to the test on struggling behavior, swimming, immobility and defecation rate*. Eur J Pharmacol, 1988. **158**(3): p. 207-12.
369. Panlilio, L.V., et al., *Novel use of a lipid-lowering fibrate medication to prevent nicotine reward and relapse: preclinical findings*. Neuropsychopharmacology, 2012. **37**(8): p. 1838-47.
370. Adriani, W., et al., *The spontaneously hypertensive-rat as an animal model of ADHD: evidence for impulsive and non-impulsive subpopulations*. Neurosci Biobehav Rev, 2003. **27**(7): p. 639-51.

371. Adriani, W. and G. Laviola, *Elevated levels of impulsivity and reduced place conditioning with d-amphetamine: two behavioral features of adolescence in mice*. Behav Neurosci, 2003. **117**(4): p. 695-703.
372. Adriani, W., et al., *Altered profiles of spontaneous novelty seeking, impulsive behavior, and response to D-amphetamine in rats perinatally exposed to bisphenol A*. Environ Health Perspect, 2003. **111**(4): p. 395-401.
373. Haller, J., et al., *The active phase-related increase in corticosterone and aggression are linked*. J Neuroendocrinol, 2000. **12**(5): p. 431-6.
374. Zelena, D., et al., *Role of hypothalamic inputs in maintaining pituitary-adrenal responsiveness in repeated restraint*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003. **285**(5): p. E1110-7.
375. Zelena, D., et al., *Hypothalamic paraventricular nucleus, but not vasopressin, participates in chronic hyperactivity of the HPA axis in diabetic rats*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. **290**(2): p. E243-50.
376. Houshyar, H., Z.D. Cooper, and J.H. Woods, *Paradoxical effects of chronic morphine treatment on the temperature and pituitary-adrenal responses to acute restraint stress: a chronic stress paradigm*. J Neuroendocrinol, 2001. **13**(10): p. 862-74.
377. Houshyar, H., et al., *Differential responsivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to glucocorticoid negative-feedback and corticotropin releasing hormone in rats undergoing morphine withdrawal: possible mechanisms involved in facilitated and attenuated stress responses*. J Neuroendocrinol, 2001. **13**(10): p. 875-86.
378. Fodor, A., et al., *Blunted HPA axis response in lactating, vasopressin-deficient Brattleboro rats*. J Endocrinol, 2013. **219**(2): p. 89-100.
379. Barna, I., et al., *Cannabinoid-mediated regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in rats: age dependent role of vasopressin*. Endocr Regul, 2009. **43**(1): p. 13-21.
380. Zelena, D., Z. Mergl, and G.B. Makara, *Glutamate agonists activate the hypothalamic-pituitary-adrenal axis through hypothalamic paraventricular nucleus but not through vasopressinergic neurons*. Brain Res, 2005. **1031**(2): p. 185-93.
381. Nagy, G.M., T.J. Gorcs, and B. Halasz, *Attenuation of the suckling-induced prolactin release and the high afternoon oscillations of plasma prolactin secretion of lactating rats by antiserum to vasopressin*. Neuroendocrinology, 1991. **54**(6): p. 566-70.
382. Giovenardi, M., et al., *Hypothalamic paraventricular nucleus modulates maternal aggression in rats: effects of ibotenic acid lesion and oxytocin antisense*. Physiol Behav, 1998. **63**(3): p. 351-9.
383. Giovenardi, M., et al., *Pup age and aggressive behavior in lactating rats*. Braz J Med Biol Res, 2000. **33**(9): p. 1083-8.
384. Filaretova, L.P., et al., *The healing of NSAID-induced gastric lesion may be followed by small intestinal and cardiovascular side effects*. J Physiol Pharmacol, 2011. **62**(6): p. 619-25.
385. Lightman, S.L., et al., *Hypothalamic-pituitary-adrenal function*. Arch Physiol Biochem, 2002. **110**(1-2): p. 90-3.
386. Hashimoto, K., et al., *Vasopressin and CRF-ACTH in adrenalectomized and dexamethasone-treated rats*. Neuroendocrinology, 1981. **32**(2): p. 87-91.
387. Ma, X.M., S.L. Lightman, and G. Aguilera, *Vasopressin and corticotropin-releasing hormone gene responses to novel stress in rats adapted to repeated restraint*. Endocrinology, 1999. **140**(8): p. 3623-32.
388. Suzuki, H., et al., *Response of arginine vasopressin-enhanced green fluorescent protein fusion gene in the hypothalamus of adjuvant-induced arthritic rats*. J Neuroendocrinol, 2009. **21**(3): p. 183-90.
389. Buckingham, J.C., *Vasopressin receptors influencing the secretion of ACTH by the rat adenohypophysis*. J Endocrinol, 1987. **113**(3): p. 389-96.
390. Laulin, J.P., E.A. Ezzarani, and R. Brudieux, *Production of corticosterone in male homozygous Brattleboro rats*. Horm Metab Res, 1985. **17**(7): p. 342-5.
391. Itagaki, E., et al., *Increases in plasma ACTH and cortisol after hypertonic saline infusion in patients with central diabetes insipidus*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(12): p. 5749-54.
392. Buckingham, J.C., *The influence of vasopressin on hypothalamic corticotrophin releasing activity in rats with inherited diabetes insipidus*. J Physiol, 1981. **312**: p. 9-16.
393. Buckingham, J.C. and J.H. Leach, *Hypothalamo-pituitary-adrenocortical function in rats with inherited diabetes insipidus*. J Physiol, 1980. **305**: p. 397-404.
394. Lightman, S.L. and W.S. Young, 3rd, *Corticotrophin-releasing factor, vasopressin and pro-opiomelanocortin mRNA responses to stress and opiates in the rat*. J Physiol, 1988. **403**: p. 511-23.
395. Casolini, P., et al., *Brain adrenocorticoid receptor binding capacity in the diabetes insipidus brattleboro rat is dependent on maternal genotype*. Neuroendocrinology, 1993. **57**(4): p. 658-62.

396. Reghunandanan, V., R. Reghunandanan, and R.K. Marya, *Vasopressin: its possible role in circadian time keeping*. Chronobiologia, 1991. **18**(1): p. 39-47.
397. Schroder, H., J. Stehle, and M. Henschel, *Twenty-four-hour pineal melatonin synthesis in the vasopressin-deficient Brattleboro rat*. Brain Res, 1988. **459**(2): p. 328-32.
398. Tankosic, P., et al., *Fetal and postnatal maturation of corticotrope function in the vasopressin-deficient rat (Brattleboro strain): a radioimmunological, immunocytochemical, and morphometric study*. Ann N Y Acad Sci, 1982. **394**: p. 560-73.
399. Burlet, A., M. Chateau, and P. Czernichow, *Immunocytochemical study of neurohypophysial peptides during corticotropic maturation of infant rats*. Cell Tissue Res, 1979. **201**(2): p. 315-25.
400. Chappell, P.B., et al., *Alterations in corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in discrete rat brain regions after acute and chronic stress*. J Neurosci, 1986. **6**(10): p. 2908-14.
401. Burlet, A., et al., *Comparative immunocytochemical localization of corticotropin releasing factor (CRF-41) and neurohypophysial peptides in the brain of Brattleboro and Long-Evans rats*. Neuroendocrinology, 1983. **37**(1): p. 64-72.
402. Krieger, D.T., A. Liotta, and M.J. Brownstein, *Corticotropin releasing factor distribution in normal and Brattleboro rat brain, and effect of deafferentation, hypophysectomy and steroid treatment in normal animals*. Endocrinology, 1977. **100**(1): p. 227-37.
403. Tannahill, L.A., et al., *Comparison of adrenocorticotropin control in Brattleboro, Long-Evans, and Wistar rats. Measurement of corticotropin-releasing factor, arginine vasopressin, and oxytocin in hypophysial portal blood*. Neuroendocrinology, 1988. **48**(6): p. 650-7.
404. Burgess, L.H. and R.J. Handa, *Chronic estrogen-induced alterations in adrenocorticotropin and corticosterone secretion, and glucocorticoid receptor-mediated functions in female rats*. Endocrinology, 1992. **131**(3): p. 1261-9.
405. Correa, F.M. and J.M. Saavedra, *High histamine levels in specific hypothalamic nuclei of Brattleboro rats lacking vasopressin*. Brain Res, 1983. **276**(2): p. 247-52.
406. Makara, G.B., et al., *The vasopressin-deficient Brattleboro rat: lessons for the hypothalamo-pituitary-adrenal axis regulation*. Cell Mol Neurobiol, 2012. **32**(5): p. 759-66.
407. Holzbauer, M., et al., *Observations on pituitary and cerebral catecholamines in Brattleboro rats*. Med Biol, 1980. **58**(1): p. 25-32.
408. Dawson, R., Jr., D.R. Wallace, and M.J. King, *Monoamine and amino acid content in brain regions of Brattleboro rats*. Neurochem Res, 1990. **15**(7): p. 755-61.
409. Olah, M., et al., *Dopamine-regulated adrenocorticotrophic hormone secretion in lactating rats: functional plasticity of melanotropes*. Neuroendocrinology, 2009. **90**(4): p. 391-401.
410. Chen, J., et al., *Vasopressin does not mediate hypersensitivity of the hypothalamic pituitary adrenal axis during chronic stress*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1148**: p. 349-59.
411. Makino, S., M.A. Smith, and P.W. Gold, *Increased expression of corticotropin-releasing hormone and vasopressin messenger ribonucleic acid (mRNA) in the hypothalamic paraventricular nucleus during repeated stress: association with reduction in glucocorticoid receptor mRNA levels*. Endocrinology, 1995. **136**(8): p. 3299-309.
412. Clayton, G.W., et al., *Effect of corticosteroid administration on vasopressin-induced adrenocorticotropin release in man*. J Clin Endocrinol Metab, 1965. **25**(9): p. 1156-62.
413. Gonzalez-Luque, A., et al., *Stimulation of corticotropin release by corticotropin-releasing factor (CRF) or by vasopressin following intrapituitary infusions in unanesthetized dogs: inhibition of the responses by dexamethasone*. Endocrinology, 1970. **86**(5): p. 1134-42.
414. Makrigiannakis, A., et al., *Corticotropin-releasing hormone (CRH) is expressed at the implantation sites of early pregnant rat uterus*. Life Sci, 1995. **57**(20): p. 1869-75.
415. O'Keane, V., et al., *Changes in the maternal hypothalamic-pituitary-adrenal axis during the early puerperium may be related to the postpartum 'blues'*. J Neuroendocrinol, 2011. **23**(11): p. 1149-55.
416. Neumann, I.D., et al., *Attenuated neuroendocrine responses to emotional and physical stressors in pregnant rats involve adenohypophysial changes*. J Physiol, 1998. **508** (Pt 1): p. 289-300.
417. Ma, D. and J.F. Morris, *Protein synthetic machinery in the dendrites of the magnocellular neurosecretory neurons of wild-type Long-Evans and homozygous Brattleboro rats*. J Chem Neuroanat, 2002. **23**(3): p. 171-86.
418. Bundzikova, J., et al., *The alpha2-adrenoceptors do not modify the activity of tyrosine hydroxylase, corticoliberine, and neuropeptide Y producing hypothalamic magnocellular neurons in the Long Evans and Brattleboro rats*. J Physiol Pharmacol, 2010. **61**(4): p. 391-8.

419. Pirnik, Z., B. Mravec, and A. Kiss, *Fos protein expression in mouse hypothalamic paraventricular (PVN) and supraoptic (SON) nuclei upon osmotic stimulus: colocalization with vasopressin, oxytocin, and tyrosine hydroxylase*. *Neurochem Int*, 2004. **45**(5): p. 597-607.
420. Kawasaki, M., et al., *Expression of immediate early genes and vasopressin heteronuclear RNA in the paraventricular and supraoptic nuclei of rats after acute osmotic stimulus*. *J Neuroendocrinol*, 2005. **17**(4): p. 227-37.
421. Herman, J.P., D. Adams, and C. Prewitt, *Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm*. *Neuroendocrinology*, 1995. **61**(2): p. 180-90.
422. Sawchenko, P.E., C.A. Arias, and M.T. Mortrud, *Local tetrodotoxin blocks chronic stress effects on corticotropin-releasing factor and vasopressin messenger ribonucleic acids in hypophysiotropic neurons*. *J Neuroendocrinol*, 1993. **5**(4): p. 341-8.
423. Herman, J.P., *In situ hybridization analysis of vasopressin gene transcription in the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat: regulation by stress and glucocorticoids*. *J Comp Neurol*, 1995. **363**(1): p. 15-27.
424. Duncan, G.E., K.B. Johnson, and G.R. Breese, *Topographic patterns of brain activity in response to swim stress: assessment by 2-deoxyglucose uptake and expression of Fos-like immunoreactivity*. *J Neurosci*, 1993. **13**(9): p. 3932-43.
425. Antoni, F.A., *Vasopressinergic control of pituitary adrenocorticotropin secretion comes of age*. *Front Neuroendocrinol*, 1993. **14**(2): p. 76-122.
426. Swanson, L.W. and H.G. Kuypers, *The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods*. *J Comp Neurol*, 1980. **194**(3): p. 555-70.
427. Hosoya, Y. and M. Matsushita, *Identification and distribution of the spinal and hypophyseal projection neurons in the paraventricular nucleus of the rat. A light and electron microscopic study with the horseradish peroxidase method*. *Exp Brain Res*, 1979. **35**(2): p. 315-31.
428. McCann, S.M., et al., *Pituitary-adrenal function in the absence of vasopressin*. *Endocrinology*, 1966. **79**(6): p. 1058-64.
429. Wiley, M.K., A.F. Pearlmutter, and R.E. Miller, *Decreased adrenal sensitivity to ACTH in the vasopressin-deficient (Brattleboro) rat*. *Neuroendocrinology*, 1974. **14**(5): p. 257-70.
430. Angelucci, L. and S. Scaccianoce, *Mechanisms in the control of stress responsiveness*. *Ann Ist Super Sanita*, 1990. **26**(1): p. 75-8.
431. Roper, J., et al., *The vasopressin Avpr1b receptor: molecular and pharmacological studies*. *Stress*, 2011. **14**(1): p. 98-115.
432. Herman, J.P., C.M. Prewitt, and W.E. Cullinan, *Neuronal circuit regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical stress axis*. *Crit Rev Neurobiol*, 1996. **10**(3-4): p. 371-94.
433. Popova, N.K., et al., *Hypothalamic tryptophan hydroxylase and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical response to water deprivation and hydration in vasopressin-deficient and normal rats*. *Pflugers Arch*, 2002. **444**(3): p. 372-7.
434. Schlosser, S.F., et al., *Oxytocin-stimulated release of adrenocorticotropin from the rat pituitary is mediated by arginine vasopressin receptors of the V1b type*. *Endocrinology*, 1994. **135**(5): p. 2058-63.
435. Zelena, D., et al., *Oxytocin in Brattleboro rats: increased synthesis is contrasted by blunted intrahypothalamic release from supraoptic nucleus neurones*. *J Neuroendocrinol*, 2013. **25**(8): p. 711-8.
436. Lewandowska, A., A. Glowacka, and J.W. Guzek, *The vasopressin and oxytocin neurohypophysial content as influenced by bleeding or dehydration: effect of cholecystokinin octapeptide*. *J Physiol Pharmacol*, 1992. **43**(2): p. 153-63.
437. Lipinska, S., S. Forys, and J. Lipinska, *The post-haemorrhagic vasopressin release into the blood*. *J Physiol Pharmacol*, 2004. **55**(1 Pt 1): p. 73-83.
438. Foldes, A., et al., *Anaphylactoid reactions activate hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis: comparison with endotoxic reactions*. *Brain Res Bull*, 2000. **52**(6): p. 573-9.
439. Spiga, F., et al., *Blockade of the V(1b) receptor reduces ACTH, but not corticosterone secretion induced by stress without affecting basal hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity*. *J Endocrinol*, 2009. **200**(3): p. 273-83.
440. Plotsky, P.M., T.O. Bruhn, and S. Otto, *Central modulation of immunoreactive arginine vasopressin and oxytocin secretion into the hypophysial-portal circulation by corticotropin-releasing factor*. *Endocrinology*, 1985. **116**(4): p. 1669-71.

441. Fujiwara, Y., et al., *Insulin hypersensitivity in mice lacking the V1b vasopressin receptor*. J Physiol, 2007. **584**(Pt 1): p. 235-44.
442. Stewart, L.Q., et al., *Pituitary-adrenal response to acute and repeated mild restraint, forced swim and change in environment stress in arginine vasopressin receptor 1b knockout mice*. J Neuroendocrinol, 2008. **20**(5): p. 597-605.
443. Zelena, D. and G.B. Makara, *The role of adrenocorticotropin beyond the glucocorticoid horizon*. Nova Publisher, In Advances in Medicine and Biology, 2012. **43**(Chapter III.): p. 109-138.
444. Saez, J.M., M. Begeot, and P. Durand, *[ACTH receptors]*. Ann Endocrinol (Paris), 1989. **50**(5): p. 409-17.
445. Horvath, E., B. Varga, and E. Stark, *Stimulation of progesterone production by adrenocorticotrophic hormone and prostaglandin E2 in rat luteal cells*. Biol Reprod, 1986. **35**(1): p. 44-8.
446. Varga, B., E. Stark, and E. Horvath, *Direct effects of ACTH on the ovary*. Acta Physiol Hung, 1986. **67**(1): p. 3-11.
447. Stark, E. and B. Varga, *Effect of ACTH on target-organ blood flow, with special reference to an extra-adrenal effect*. Acta Med Acad Sci Hung, 1968. **25**(3): p. 367-81.
448. Bertolini, A., *The opioid/anti-opioid balance in shock: a new target for therapy in resuscitation*. Resuscitation, 1995. **30**(1): p. 29-42.
449. Gruber, K.A., et al., *Natriuretic and hypertensive activities reside in a fragment of ACTH*. Hypertension, 1984. **6**(4): p. 468-74.
450. Weigent, D.A. and J.E. Blalock, *Interactions between the neuroendocrine and immune systems: common hormones and receptors*. Immunol Rev, 1987. **100**: p. 79-108.
451. Brod, S.A. and Z.M. Hood, *Ingested (oral) ACTH inhibits EAE*. J Neuroimmunol, 2011. **232**(1-2): p. 131-5.
452. Catania, A., et al., *The melanocortin system in control of inflammation*. ScientificWorldJournal, 2010. **10**: p. 1840-53.
453. Montero-Melendez, T., H.B. Patel, and M. Perretti, *Role of melanocortin receptors in the regulation of gouty inflammation*. Curr Rheumatol Rep, 2011. **13**(2): p. 138-45.
454. Lesault, A., B. Elchinger, and B. Desbals, *Circadian variations and extraadrenal effect of ACTH on insulinemia in rabbit*. Horm Metab Res, 1991. **23**(10): p. 461-4.
455. Lewis, G.P. and J. Matthews, *The mobilization of free fatty acids from rabbit adipose tissue in situ*. Br J Pharmacol, 1968. **34**(3): p. 564-78.
456. Spirovski, M.Z., et al., *Effect of ACTH on lipolysis in adipose tissue of normal and adrenalectomized rats in vivo*. Am J Physiol, 1975. **228**(2): p. 382-5.
457. Schulz, C., et al., *Endogenous ACTH, not only alpha-melanocyte-stimulating hormone, reduces food intake mediated by hypothalamic mechanisms*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2010. **298**(2): p. E237-44.
458. Bertolini, A., R. Tacchi, and A.V. Vergoni, *Brain effects of melanocortins*. Pharmacol Res, 2009. **59**(1): p. 13-47.
459. Nankova, B., et al., *Immobilization stress elevates gene expression for catecholamine biosynthetic enzymes and some neuropeptides in rat sympathetic ganglia: effects of adrenocorticotropin and glucocorticoids*. Endocrinology, 1996. **137**(12): p. 5597-604.
460. Mikati, M.A., G.A. Lepejian, and G.L. Holmes, *Medical treatment of patients with infantile spasms*. Clin Neuropharmacol, 2002. **25**(2): p. 61-70.
461. Gayatri, N.A., C.D. Ferrie, and H. Cross, *Corticosteroids including ACTH for childhood epilepsy other than epileptic spasms*. Cochrane Database Syst Rev, 2007(1): p. CD005222.
462. Thorisdottir, S., et al., *Search for the optimal dose interval of adrenocorticotrophic hormone (ACTH(1-24)) with regard to the lipid-lowering effect*. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2009. **104**(4): p. 273-5.
463. Wotjak, C.T., et al., *Release of vasopressin within the rat paraventricular nucleus in response to emotional stress: a novel mechanism of regulating adrenocorticotrophic hormone secretion?* J Neurosci, 1996. **16**(23): p. 7725-32.
464. Neumann, I.D., et al., *Brain oxytocin inhibits the (re)activity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in male rats: involvement of hypothalamic and limbic brain regions*. Regul Pept, 2000. **96**(1-2): p. 31-8.
465. Neumann, I.D., et al., *Brain oxytocin inhibits basal and stress-induced activity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in male and female rats: partial action within the paraventricular nucleus*. J Neuroendocrinol, 2000. **12**(3): p. 235-43.
466. Loichot, C., et al., *High concentrations of oxytocin cause vasoconstriction by activating vasopressin V1A receptors in the isolated perfused rat kidney*. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2001. **363**(4): p. 369-75.

467. Vaccari, C., S.J. Lolait, and N.L. Ostrowski, *Comparative distribution of vasopressin V1b and oxytocin receptor messenger ribonucleic acids in brain*. Endocrinology, 1998. **139**(12): p. 5015-33.
468. Stachowiak, A., et al., *Effects of oxytocin on the function and morphology of the rat adrenal cortex: in vitro and in vivo investigations*. Res Exp Med (Berl), 1995. **195**(5): p. 265-74.
469. Chevalleyre, V., F.C. Moos, and M.G. Desarmenien, *Correlation between electrophysiological and morphological characteristics during maturation of rat supraoptic neurons*. Eur J Neurosci, 2001. **13**(6): p. 1136-46.
470. Chevalleyre, V., F.C. Moos, and M.G. Desarmenien, *Interplay between presynaptic and postsynaptic activities is required for dendritic plasticity and synaptogenesis in the supraoptic nucleus*. J Neurosci, 2002. **22**(1): p. 265-73.
471. Schapiro, S., *Pituitary ACTH and compensatory adrenal hypertrophy in stress-non-responsive infant rats*. Endocrinology, 1962. **71**: p. 986-9.
472. Levine, S., *Primary social relationships influence the development of the hypothalamic--pituitary--adrenal axis in the rat*. Physiol Behav, 2001. **73**(3): p. 255-60.
473. Drolet, G. and S. Rivest, *Corticotropin-releasing hormone and its receptors; an evaluation at the transcription level in vivo*. Peptides, 2001. **22**(5): p. 761-7.
474. Schmidt, M.V., et al., *Differential disinhibition of the neonatal hypothalamic- pituitary-adrenal axis in brain-specific CRH receptor 1-knockout mice*. Eur J Neurosci, 2006. **24**(8): p. 2291-8.
475. Yi, S.J. and T.Z. Baram, *Corticotropin-releasing hormone mediates the response to cold stress in the neonatal rat without compensatory enhancement of the peptide's gene expression*. Endocrinology, 1994. **135**(6): p. 2364-8.
476. Walker, C.D., et al., *Increased pituitary sensitivity to glucocorticoid feedback during the stress nonresponsive period in the neonatal rat*. Endocrinology, 1986. **119**(4): p. 1816-21.
477. Walker, C.D., et al., *The pituitary-adrenocortical system of neonatal rats is responsive to stress throughout development in a time-dependent and stressor-specific fashion*. Endocrinology, 1991. **128**(3): p. 1385-95.
478. Walker, C.D., et al., *Immunotargeted lesions of paraventricular CRF and AVP neurons in developing rats reveal the pattern of maturation of these systems and their functional importance*. J Neuroendocrinol, 1997. **9**(1): p. 25-41.
479. Schmidt, M.V., et al., *Glucocorticoid receptor blockade disinhibits pituitary-adrenal activity during the stress hyporesponsive period of the mouse*. Endocrinology, 2005. **146**(3): p. 1458-64.
480. Horio, S., H. Funahashi, and S. Mizuno, *[Plasma steroid hormones in Cushing's syndrome: their relation to cause and clinical manifestations (author's transl)]*. Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi, 1981. **57**(5): p. 807-25.
481. Perretti, M., et al., *Evidence that interleukin-1 and lipoxygenase metabolites mediate the lethal effect of complete Freund's adjuvant in adrenalectomized rats*. Lymphokine Cytokine Res, 1991. **10**(4): p. 239-43.
482. Filaretova, L.P., A.A. Filaretov, and G.B. Makara, *Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats*. Am J Physiol, 1998. **274**(6 Pt 1): p. G1024-30.
483. Pencheva, T. and R. Gindeva, *[The effect of the intracerebroventricular administration of vasopressin on the arterial pressure and heart rate of Brattleboro and Long-Evans rats]*. Eksp Med Morfol, 1991. **30**(1): p. 7-10.
484. Parry, L.J., et al., *The cardiovascular effects of porcine relaxin in Brattleboro rats*. Endocrine, 1998. **8**(3): p. 317-22.
485. Intengan, H.D., J.B. Park, and E.L. Schiffrin, *Blood pressure and small arteries in DOCA-salt-treated genetically AVP-deficient rats: role of endothelin*. Hypertension, 1999. **34**(4 Pt 2): p. 907-13.
486. Blumberg, M.S., T.G. Knoot, and R.F. Kirby, *Neural and hormonal control of arterial pressure during cold exposure in unanesthetized week-old rats*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2001. **281**(5): p. R1514-21.
487. Kaga, M., et al., *Renal vasodilatory action of arginine vasopressin in extremely low birth weight infants*. Tohoku J Exp Med, 2013. **231**(3): p. 159-64.
488. Ulrich-Lai, Y.M., M.M. Arnhold, and W.C. Engeland, *Adrenal splanchnic innervation contributes to the diurnal rhythm of plasma corticosterone in rats by modulating adrenal sensitivity to ACTH*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2006. **290**(4): p. R1128-35.
489. O'Connell, I.P., et al., *Disrupted cortisol-ACTH relationships in elderly women given corticotrophin-releasing hormone two weeks after proximal femur fracture*. Clin Endocrinol (Oxf), 2000. **52**(1): p. 51-9.
490. Payet, N. and J.G. Lehoux, *Aldosterone and corticosterone stimulation by ACTH in isolated rat adrenal glomerulosa cells: interaction with vasopressin*. J Physiol (Paris), 1982. **78**(3): p. 317-21.

491. McDonald, T.J. and P.W. Nathanielsz, *The involvement of innervation in the regulation of fetal adrenal steroidogenesis*. Horm Metab Res, 1998. **30**(6-7): p. 297-302.
492. Bornstein, S.R. and G.P. Chrousos, *Clinical review 104: Adrenocorticotropin (ACTH)- and non-ACTH-mediated regulation of the adrenal cortex: neural and immune inputs*. J Clin Endocrinol Metab, 1999. **84**(5): p. 1729-36.
493. Spiga, F., et al., *Effect of vasopressin 1b receptor blockade on the hypothalamic-pituitary-adrenal response of chronically stressed rats to a heterotypic stressor*. J Endocrinol, 2009. **200**(3): p. 285-91.
494. Stewart, L.Q., et al., *The role of the arginine vasopressin Avp1b receptor in the acute neuroendocrine action of antidepressants*. Psychoneuroendocrinology, 2008. **33**(4): p. 405-15.
495. Cannon, W.B. and D. De La Paz, *Emotional stimulation of adrenal gland secretion*. . Am J Physiol, 1911. **28**: p. 64-70.
496. Goldstein, D.S., *Catecholamines and stress*. Endocr Regul, 2003. **37**(2): p. 69-80.
497. Walker, S.W., et al., *Adrenergic and cholinergic regulation of cortisol secretion from the zona fasciculata/reticularis of bovine adrenal cortex*. Endocr Res, 1991. **17**(1-2): p. 237-65.
498. Lightly, E.R., et al., *Subclassification of beta-adrenoceptors responsible for steroidogenesis in primary cultures of bovine adrenocortical zona fasciculata/reticularis cells*. Br J Pharmacol, 1990. **99**(4): p. 709-12.
499. Shima, S., et al., *Studies on cyclic nucleotides in the adrenal gland. XI. Adrenergic regulation of adenylate cyclase activity in the adrenal cortex*. Endocrinology, 1984. **114**(2): p. 325-9.
500. Kvetnansky, R., et al., *Regulation of the sympathetic nervous system by circulating vasopressin*. Adv Exp Med Biol, 1990. **274**: p. 113-34.
501. Zelena, D., Z. Mergl, and G.B. Makara, *Postnatal development in vasopressin deficient Brattleboro rats with special attention to the hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: the role of maternal genotype*. Int J Dev Neurosci, 2009. **27**(2): p. 175-83.
502. Dlouha, H., J. Krecek, and J. Zicha, *Postnatal development and diabetes insipidus in Brattleboro rats*. Ann N Y Acad Sci, 1982. **394**: p. 10-20.
503. Livezey, G.T., J.M. Miller, and W.H. Vogel, *Plasma norepinephrine, epinephrine and corticosterone stress responses to restraint in individual male and female rats, and their correlations*. Neurosci Lett, 1985. **62**(1): p. 51-6.
504. Young, J.B., R.M. Rosa, and L. Landsberg, *Dissociation of sympathetic nervous system and adrenal medullary responses*. Am J Physiol, 1984. **247**(1 Pt 1): p. E35-40.
505. Khalil, Z., B.G. Livett, and P.D. Marley, *The role of sensory fibres in the rat splanchnic nerve in the regulation of adrenal medullary secretion during stress*. J Physiol, 1986. **370**: p. 201-15.
506. Khalil, Z., P.D. Marley, and B.G. Livett, *Elevation in plasma catecholamines in response to insulin stress is under both neuronal and nonneuronal control*. Endocrinology, 1986. **119**(1): p. 159-67.
507. Zelena, D., et al., *Response of the adrenomedullary system to early postnatal stress in the Brattleboro rat*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1148**: p. 456-61.
508. Elifanov, A.V., et al., *[Morphofunctional research on the interrenal gland of the frog Rana temporaria following arginine vasotocin administration]*. Zh Evol Biokhim Fiziol, 1988. **24**(5): p. 740-4.
509. Makara, M., et al., *[Hungarian consensus guideline for the diagnosis and treatment of B, C, and D viral hepatitis]*. Orv Hetil, 2012. **153**(10): p. 375-94.
510. Lamounier-Zepter, V. and M. Ehrhart-Bornstein, *Fat tissue metabolism and adrenal steroid secretion*. Curr Hypertens Rep, 2006. **8**(1): p. 30-4.
511. Schinner, S. and S.R. Bornstein, *Cortical-chromaffin cell interactions in the adrenal gland*. Endocr Pathol, 2005. **16**(2): p. 91-8.
512. Zacharowski, K., et al., *Toll-like receptor 4 plays a crucial role in the immune-adrenal response to systemic inflammatory response syndrome*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(16): p. 6392-7.
513. Ehrhart-Bornstein, M., et al., *Neurotransmitters and neuropeptides in the differential regulation of steroidogenesis in adrenocortical-chromaffin co-cultures*. Endocr Res, 2000. **26**(4): p. 833-42.
514. Engstrom, L., et al., *Systemic immune challenge activates an intrinsically regulated local inflammatory circuit in the adrenal gland*. Endocrinology, 2008. **149**(4): p. 1436-50.
515. Nussdorfer, G.G., *Paracrine control of adrenal cortical function by medullary chromaffin cells*. Pharmacol Rev, 1996. **48**(4): p. 495-530.
516. Plotsky, P.M., T.O. Bruhn, and W. Vale, *Central modulation of immunoreactive corticotropin-releasing factor secretion by arginine vasopressin*. Endocrinology, 1984. **115**(4): p. 1639-41.
517. Feuilloley, M., et al., *Structure-activity relationships of monomeric and dimeric synthetic ACTH fragments in perfused frog adrenal slices*. J Steroid Biochem, 1990. **35**(5): p. 583-92.

518. Raff, H., et al., *The effect of hypoxia from birth on the regulation of aldosterone in the 7-day-old rat: plasma hormones, steroidogenesis in vitro, and steroidogenic enzyme messenger ribonucleic acid.* Endocrinology, 1999. **140**(7): p. 3147-53.
519. Jezova, D., et al., *Insulin-induced hypoglycemia activates the release of adrenocorticotropin predominantly via central and propranolol insensitive mechanisms.* Endocrinology, 1987. **120**(1): p. 409-15.
520. Sippell, W.G., et al., *Plasma levels of aldosterone, corticosterone, 11-deoxycorticosterone, progesterone, 17-hydroxyprogesterone, cortisol, and cortisone during infancy and childhood.* Pediatr Res, 1980. **14**(1): p. 39-46.
521. Fiselier, T.J., et al., *Levels of renin, angiotensin I and II, angiotensin-converting enzyme and aldosterone in infancy and childhood.* Eur J Pediatr, 1983. **141**(1): p. 3-7.
522. Dotsch, J., et al., *Evidence for change of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity during infancy and childhood.* Pediatr Res, 2000. **48**(5): p. 697-700.
523. Radikova, Z., et al., *Body position and the neuroendocrine response to insulin-induced hypoglycemia in healthy subjects.* Arch Physiol Biochem, 2003. **111**(4): p. 399-405.
524. Malendowicz, L.K., et al., *Acute effects of recombinant murine leptin on rat pituitary-adrenocortical function.* Endocr Res, 1998. **24**(2): p. 235-46.
525. Grinevich, V., et al., *Hypertrophy and altered activity of the adrenal cortex in Homer 1 knockout mice.* Horm Metab Res, 2011. **43**(8): p. 551-6.
526. Grinevich, V., et al., *Homer 1 - a new player linking the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity to depression and anxiety.* Endocr Regul, 2012. **46**(3): p. 153-9.
527. Wyrwoll, C.S., M.C. Holmes, and J.R. Seckl, *11beta-hydroxysteroid dehydrogenases and the brain: from zero to hero, a decade of progress.* Front Neuroendocrinol, 2011. **32**(3): p. 265-86.
528. Holmes, M.C. and J.R. Seckl, *The role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases in the brain.* Mol Cell Endocrinol, 2006. **248**(1-2): p. 9-14.
529. Brown, R.W., et al., *The ontogeny of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and mineralocorticoid receptor gene expression reveal intricate control of glucocorticoid action in development.* Endocrinology, 1996. **137**(2): p. 794-7.
530. Robson, A.C., et al., *11 Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in the postnatal and adult rat brain.* Brain Res Mol Brain Res, 1998. **61**(1-2): p. 1-10.
531. Wan, S.L., M.Y. Liao, and K. Sun, *Postnatal development of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in the rat hippocampus.* J Neurosci Res, 2002. **69**(5): p. 681-6.
532. Sinclair, D., et al., *Dynamic molecular and anatomical changes in the glucocorticoid receptor in human cortical development.* Mol Psychiatry, 2011. **16**(5): p. 504-15.
533. Schmidt, M.V., et al., *The postnatal development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the mouse.* Int J Dev Neurosci, 2003. **21**(3): p. 125-32.
534. Yi, S.J., J.N. Masters, and T.Z. Baram, *Glucocorticoid receptor mRNA ontogeny in the fetal and postnatal rat forebrain.* Mol Cell Neurosci, 1994. **5**(5): p. 385-93.
535. van Eekelen, J.A., M.C. Bohn, and E.R. de Kloet, *Postnatal ontogeny of mineralocorticoid and glucocorticoid receptor gene expression in regions of the rat tel- and diencephalon.* Brain Res Dev Brain Res, 1991. **61**(1): p. 33-43.
536. Mizoguchi, K., et al., *Aging attenuates glucocorticoid negative feedback in rat brain.* Neuroscience, 2009. **159**(1): p. 259-70.
537. Berardelli, R., et al., *Role of mineralocorticoid receptors on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in humans.* Endocrine, 2013. **43**(1): p. 51-8.
538. Marzolla, V., et al., *Mineralocorticoid receptor in adipocytes and macrophages: A promising target to fight metabolic syndrome.* Steroids, 2014.
539. Sohn, H.J., et al., *Aldosterone modulates cell proliferation and apoptosis in the neonatal rat heart.* J Korean Med Sci, 2010. **25**(9): p. 1296-304.
540. Seckl, J.R., *11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase in the brain: a novel regulator of glucocorticoid action?* Front Neuroendocrinol, 1997. **18**(1): p. 49-99.
541. Barker, S., et al., *Characterization of a rat adrenocortical inner zone-specific antigen and identification of its putative precursor.* J Mol Endocrinol, 1992. **9**(2): p. 95-102.
542. Hlavacova, N. and D. Jezova, *Chronic treatment with the mineralocorticoid hormone aldosterone results in increased anxiety-like behavior.* Horm Behav, 2008. **54**(1): p. 90-7.
543. Oitzl, M.S., et al., *Brain development under stress: hypotheses of glucocorticoid actions revisited.* Neurosci Biobehav Rev, 2010. **34**(6): p. 853-66.

544. Berger, S., et al., *Analysis of glucocorticoid and mineralocorticoid signalling by gene targeting*. Endocr Res, 1996. **22**(4): p. 641-52.
545. Low, J.A., et al., *Middle cerebral artery blood flow velocity in the newborn following delivery*. Clin Invest Med, 1993. **16**(1): p. 29-37.
546. Logvinenko, N.S., E.I. Solenov, and L.N. Ivanova, *A rapid nongenomic effect of aldosterone on intracellular sodium concentration in the distal nephron segment of the rat*. Dokl Biochem Biophys, 2006. **406**: p. 7-10.
547. Logvinenko, N.S., E.I. Solenov, and L.N. Ivanova, *Effect of aldosterone on the regulation of the volume of principal cells of rat cortical collecting duct epithelium in early postnatal development*. Dokl Biol Sci, 2008. **423**: p. 385-8.
548. Olivera, W.G., et al., *Aldosterone regulates Na,K-ATPase and increases lung edema clearance in rats*. Am J Respir Crit Care Med, 2000. **161**(2 Pt 1): p. 567-73.
549. Penney, A.G., F.J. Andrews, and P.E. O'Brien, *Influence of age on natural and delayed healing of experimentally-induced gastric ulcers in rats*. Dig Dis Sci, 1996. **41**(9): p. 1838-44.
550. Laine, L., K. Takeuchi, and A. Tarnawski, *Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside*. Gastroenterology, 2008. **135**(1): p. 41-60.
551. Sanchez-Franco, F., et al., *Arginine-vasopressin immunoreactive material in the gastrointestinal tract*. Histochemistry, 1986. **85**(5): p. 419-22.
552. Gregus, A., et al., *Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats*. Behav Brain Res, 2005. **156**(1): p. 105-14.
553. Korte, S.M., *Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology*. Neurosci Biobehav Rev, 2001. **25**(2): p. 117-42.
554. Serradeil-Le Gal, C., et al., *Nonpeptide vasopressin receptor antagonists: development of selective and orally active V1a, V2 and V1b receptor ligands*. Prog Brain Res, 2002. **139**: p. 197-210.
555. Stemmelin, J., et al., *Evidence that the lateral septum is involved in the antidepressant-like effects of the vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415*. Neuropsychopharmacology, 2005. **30**(1): p. 35-42.
556. Cilia, J., et al., *Further neurochemical and behavioural investigation of Brattleboro rats as a putative model of schizophrenia*. J Psychopharmacol, 2010. **24**(3): p. 407-19.
557. Homberg, J.R., et al., *Enhanced motivation to self-administer cocaine is predicted by self-grooming behaviour and relates to dopamine release in the rat medial prefrontal cortex and amygdala*. Eur J Neurosci, 2002. **15**(9): p. 1542-50.
558. van Erp, A.M., et al., *Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening*. Behav Brain Res, 1994. **65**(1): p. 47-55.
559. Bagdy, G., et al., *Anxiety-like effects induced by acute fluoxetine, sertraline or m-CPP treatment are reversed by pretreatment with the 5-HT2C receptor antagonist SB-242084 but not the 5-HT1A receptor antagonist WAY-100635*. Int J Neuropsychopharmacol, 2001. **4**(4): p. 399-408.
560. Homberg, J.R., et al., *Individual differences in the effects of serotonergic anxiolytic drugs on the motivation to self-administer cocaine*. Neuroscience, 2004. **128**(1): p. 121-30.
561. Moody, T.W., Z. Merali, and J.N. Crawley, *The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behavior*. Ann N Y Acad Sci, 1988. **525**: p. 281-90.
562. Ebner, K., et al., *Forced swimming triggers vasopressin release within the amygdala to modulate stress-coping strategies in rats*. Eur J Neurosci, 2002. **15**(2): p. 384-8.
563. Hodgson, R.A., et al., *Comparison of the V1b antagonist, SSR149415, and the CRF1 antagonist, CP-154,526, in rodent models of anxiety and depression*. Pharmacol Biochem Behav, 2007. **86**(3): p. 431-40.
564. Scott, L.V. and T.G. Dinan, *Vasopressin as a target for antidepressant development: an assessment of the available evidence*. J Affect Disord, 2002. **72**(2): p. 113-24.
565. Landgraf, R. and A. Wigger, *Born to be anxious: neuroendocrine and genetic correlates of trait anxiety in HAB rats*. Stress, 2003. **6**(2): p. 111-9.
566. Scott, L.V. and T.G. Dinan, *Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: implications for the pathophysiology of depression*. Life Sci, 1998. **62**(22): p. 1985-98.
567. Cryan, J.F., R.J. Valentino, and I. Lucki, *Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test*. Neurosci Biobehav Rev, 2005. **29**(4-5): p. 547-69.
568. Frank, E. and R. Landgraf, *The vasopressin system--from antidiuresis to psychopathology*. Eur J Pharmacol, 2008. **583**(2-3): p. 226-42.

569. Jentsch, J.D. and J.R. Taylor, *Sex-related differences in spatial divided attention and motor impulsivity in rats*. Behav Neurosci, 2003. **117**(1): p. 76-83.
570. Fodor, A., et al., *The effects of vasopressin deficiency on aggression and impulsiveness in male and female rats*. Psychoneuroendocrinology, 2014. **47**: p. 141-50.
571. Aliczki, M., et al., *The effects of lactation on impulsive behavior in vasopressin-deficient Brattleboro rats*. Horm Behav, 2014. **66**(3): p. 545-51.
572. Torregrossa, M.M., M. Xie, and J.R. Taylor, *Chronic corticosterone exposure during adolescence reduces impulsive action but increases impulsive choice and sensitivity to yohimbine in male Sprague-Dawley rats*. Neuropsychopharmacology, 2012. **37**(7): p. 1656-70.
573. Krause, E.G., et al., *Hydration state controls stress responsiveness and social behavior*. J Neurosci, 2011. **31**(14): p. 5470-6.
574. Honess, P.E. and C.M. Marin, *Behavioural and physiological aspects of stress and aggression in nonhuman primates*. Neurosci Biobehav Rev, 2006. **30**(3): p. 390-412.
575. Szot, P. and D.M. Dorsa, *Expression of vasopressin mRNA in extrahypothalamic nuclei of the homozygous Brattleboro rat is not modulated by testosterone*. Neuroendocrinology, 1993. **58**(4): p. 381-7.
576. Delville, Y., K.M. Mansour, and C.F. Ferris, *Testosterone facilitates aggression by modulating vasopressin receptors in the hypothalamus*. Physiol Behav, 1996. **60**(1): p. 25-9.
577. Albers, H.E., *The regulation of social recognition, social communication and aggression: vasopressin in the social behavior neural network*. Horm Behav, 2012. **61**(3): p. 283-92.
578. Carre, J.M., et al., *Changes in testosterone mediate the effect of winning on subsequent aggressive behaviour*. Psychoneuroendocrinology, 2013. **38**(10): p. 2034-41.
579. Landgraf, R., I. Neumann, and Q.J. Pittman, *Septal and hippocampal release of vasopressin and oxytocin during late pregnancy and parturition in the rat*. Neuroendocrinology, 1991. **54**(4): p. 378-83.
580. Walker, C.D., D.J. Toufexis, and A. Burlet, *Hypothalamic and limbic expression of CRF and vasopressin during lactation: implications for the control of ACTH secretion and stress hyporesponsiveness*. Prog Brain Res, 2001. **133**: p. 99-110.
581. Stern, J.M. and J.M. Kolunje, *Maternal aggression of rats is impaired by cutaneous anesthesia of the ventral trunk, but not by nipple removal*. Physiol Behav, 1993. **54**(5): p. 861-8.
582. Bosch, O.J. and I.D. Neumann, *Vasopressin released within the central amygdala promotes maternal aggression*. Eur J Neurosci, 2010. **31**(5): p. 883-91.
583. Bayerl, D.S., S.M. Klampfl, and O.J. Bosch, *Central V1b receptor antagonism in lactating rats: Impairment of maternal care but not of maternal aggression*. J Neuroendocrinol, 2014.
584. Nephew, B.C. and R.S. Bridges, *Central actions of arginine vasopressin and a V1a receptor antagonist on maternal aggression, maternal behavior, and grooming in lactating rats*. Pharmacol Biochem Behav, 2008. **91**(1): p. 77-83.
585. Haller, J. and M.R. Kruk, *Normal and abnormal aggression: human disorders and novel laboratory models*. Neurosci Biobehav Rev, 2006. **30**(3): p. 292-303.

10. Saját publikációk

10.1. Publikációk az értekezés témájában

10.1.1. Újságcikkek

2003

1. Zelena D, Mergl Zs, Makara GB Maternal genotype influences stress reactivity of Brattleboro rats genetically lacking vasopressin. *J Neuroend* (2003) 15: 1105-1110.

2004

2. Zelena D, Földes A, Mergl Zs, Barna I, Kovács KJ, Makara GB Effects of repeated restraint stress on hypothalamo-pituitary-adrenocortical function in vasopressin deficient Brattleboro rat. *Brain Research Bulletin* (2004) 63:521-530.
3. Makara GB, Zelena D, Mergl Zs The role of vasopressin in hypothalamo-hypophysis-adrenal axis activation during stress: an assessment of the evidence. *Ann Rev NYAcad Sci* (2004) 1018: 151-61.
4. Zelena D, Mergl Zs, Makara GB Maternal genotype can influence the outcome of a study on mutant animals. *Ann Rev NYAcad Sci* (2004) 1018: 477-9.

2005

5. Zelena D, Mergl Zs, Makara GB Glutamate agonists activate the hypothalamic-pituitary-adrenal axis through hypothalamic paraventricular nucleus but not through vasopressinerg neurons. *Brain Res* (2005) 1031 (2):185-193.

2006

6. Zelena D, Filaretova L, Mergl Z, Barna I, Toth ZE, Makara GB Nucleus paraventricularis hypothalami but not vasopressin participates in chronic hyperactivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2006) 290: E243-E250.
7. Zelena D, Mergl Zs, Makara GB The role of vasopressin in diabetes mellitus-induced hypothalamo-pituitary-adrenal axis activation: studies in Brattleboro rats. *Brain Res Bull* (2006) 69:48-56.

2007

8. Mlynarik M, Zelena D, Bagdy Gy, Makara GB, Jezova D Signs of attenuated depression-like behaviour in vasopressin deficient Brattleboro rats. *Hormones and Behav* (2007) 51:395-405.

2008

9. Domokos A, Mergl Z, Barna I, Makara GB, Zelena D Congenital vasopressin deficiency and acute and chronic opiate effects on hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity in Brattleboro rats. *J Endocrinol* (2008) 196:113-21.
10. Zelena D, Domokos A, Barna I, Mergl Z, Haller J, Makara GB Control of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the neonatal period: adrenocorticotropin and

corticosterone stress responses dissociate in vasopressin-deficient Brattleboro rats. *Endocrinology* (2008) 149:2576-83.

11. Zelena D The Role of Vasopressin in Affective Disorders: Possible Targets of Intervention. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry* (2008) 8:275-285.
12. Bundzikova J, Pirnik Z, Zelena D, Mikkelsen JD, Kiss A Response of Substances Co-Expressed in Hypothalamic Magnocellular Neurons to Osmotic Challenges in Normal and Brattleboro Rats. *Cell Mol Neurobiol* (2008) 28(8):1033-47.
13. Zelena D, Barna I, Csabai K, Orlando GF, Makara GB, Engelmann M Response of the adrenomedullary system to early postnatal stress in the Brattleboro rat. *Ann NY Acad Sci* (2008) 1148:456-61.
14. Makara GB, Domokos A, Mergl Z, Csabai K, Barna I, Zelena D Gender-specific regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and the role of vasopressin during the neonatal period. *Ann NY Acad Sci* (2008) 1148:439-45.
15. Bundzikova J, Pirnik Z, Mikkelsen JD, Zelena D, Kiss A Activity of oxytocinergic neurons in the supraoptic nucleus under stimulation of α_2 -adrenoceptors in Brattleboro rats. *Ann NY Acad Sci* (2008) 1148:154-60.

2009

16. Zelena D, Langnaese K, Domokos A, Pintér O, Landgraf R., Makara GB, Engelmann M Vasopressin administration into the PVN normalizes plasmaoxytocin and corticosterone levels in Brattleboro rats *Endocrinology* (2009) 150(6):2791-8.
17. Bundzikova J, Pirnik Z, Zelena D, Mikkelsen JD, Kiss A α_2 -adrenergic stimulation of oxytocinergic neurons in the hypothalamic magnocellular neurons is influenced by its antagonists in Brattleboro rats. *Cell Mol Neurobiol* (2009) 29:1015-23.
18. Zelena D, Domokos A, Jain S, Jankord R, Filaretova L The stimuli-specific role of vasopressin in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis response to stress. *J Endocrinol* (2009) 202:263-78.
19. Zelena D Yin-Yang Neuropeptides In Depression *Frontiers in Neuroscience* (2009) 3:251-252.
20. Barna I, Csabai K, Makara GB, Zelena D Cannabinoid-mediated regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in rats: age dependent role of vasopressin. *Endocr Regul* (2009) 43(1):13-21.

2010

21. Zelena D, Filaretova L Age-dependent role of vasopressin in susceptibility of gastric mucosa to indomethacin-induced injury. *Regul Pept* (2010) 161:15-21.
22. Bundzikova J, Pirnik Z, Zelena D, Mikkelsen JD, Kiss A The α_2 -adrenoceptors do not modify the activity of tyrosine hydroxylase, corticoliberine, and neuropeptide Y producing hypothalamic magnocellular neurons in the Long Evans and Brattleboro rats. *J Physiol Pharmacol* (2010) 61:391-8.
23. Zelena D, Jain SK Another Side of the Antidiuretic Hormone, Vasopressin: Its Role in Stress Regulation. *Journal of Experimental Sciences* (2010) 1: No9.

2011

24. Zelena D, Barna I, Pintér O, Klausz B, Varga J, Makara GB Congenital absence of vasopressin and age-dependent changes in ACTH and corticosterone stress responses in rats. *Stress* (2011) 14(4):420-30.
25. Pintér O, Domokos Á, Mergl Zs, Mikics É, Zelena D Do stress hormones connect environmental effects with behavior in the forced swim test? *Endocrine Journal* (2011) 58(5):395-407.
26. Sterrenburg L, Borch A, Peeters BW, Pintér O, Zelena D, Roubos EW, Kozicz T Acute ether stress differentially affects corticotropin-releasing factor and urocortin 1 in the Brattleboro rat. *Brain Res* (2011) 1398:21-9.
27. Filaretova LP, Bagaeva TR, Morozova OY, Zelena D The healing of NSAID-induced gastric lesion may be followed by small intestinal and cardiovascular side effects. *J Physiol Pharmacol* (2011) 62(6):619-25.

2012

28. Makara GB, Varga J, Barna I, Pintér O, Klausz B, Zelena D The vasopressin deficient Brattleboro rat: Lessons for the hypothalamo-pituitary-adrenal axis regulation. *Cellular and Molecular Neurobiology* (2012) 32(5):759-766.
29. Zelena D Vasopressin in health and disease with a focus on affective disorders. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem* (2012) 12(4):286-303.
30. Fodor A, Klausz B, Pintér O, Daviu N, Rabasa C, Rotllant D, Balazsfi D, Kovacs KB, Nadal R, Zelena D Maternal neglect with reduced depressive-like behavior and blunted c-fos activation in Brattleboro mothers, the role of central vasopressin. *Hormones and Behavior* (2012) 62:539-51.

2013

31. Zelena D, Pintér O, Langnaese K, Richter K, Landgraf R, Makara GB, Engelmann M. Oxytocin in Brattleboro Rats: Increased Synthesis is Contrasted by Blunted Intrahypothalamic Release From Supraoptic Nucleus Neurons. *J Neuroendocrinol* (2013) 25:711-8.
32. Fodor A, Pintér O, Domokos A, Langnaese K, Barna I, Engelmann M, Zelena D Blunted HPA axis response in lactating, vasopressin-deficient Brattleboro rats. *J Endocrinol* (2013) 219(2):89-100.
33. Varga J, Ferenczi S, Kovács KJ, Garafova A, Jezova D, Zelena D Comparison of Stress-Induced Changes in Adults and Pups: Is Aldosterone the Main Adrenocortical Stress Hormone during the Perinatal Period in Rats? *PLoS One*. (2013) 8(9):e72313

2014

34. Fodor A, Zelena D The Effect of Maternal Stress Activation on the Offspring during Lactation in Light of Vasopressin. *The Scientific World Journal* (2014) 2014:265394.
35. Fodor A, Barsvári B, Aliczki M, Balogh Z, Zelena D, Goldberg SR, Haller J The effects of vasopressin deficiency on aggression and impulsiveness in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology* (2014) 47:141-50.
36. Aliczki M, Fodor A, Balogh Z, Haller J, Zelena D The effects of lactation on impulsive behavior in vasopressin-deficient. Brattleboro rats *Horm Behav* (2014) 66:545-551.

2015

37. Balázsfi D, Pintér O, Klausz B, Kovács KB, Fodor A, Török B, Engelmann M, Zelena D Restoration of peripheral V2 receptor vasopressin signaling fails to correct behavioral changes in Brattleboro rats. *Psychoneuroendocrinology* (2015) 51:11-23.
38. Zelena D The Janus Face of Stress on Reproduction: From Health to Disease. *International Journal of Endocrinology Volume 2015* (2015), Article ID 458129, 10 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/458129>
39. Zelena D, Makara GB. Szteroidok: A glükokortikoidok élettani és gyógyszeres hatásai. *Orvosi Hetilap* (2015) 156:1415-25.
40. Zelena D, Pintér O, Balázsfi D, Langnaese K, Richter K, Landgraf R, Makara GB, Engelmann M. Vasopressin signaling at brain level controls stress hormone release: The vasopressin-deficient Brattleboro rat as a model. *Amino Acids* (2015)

10.1.2. Könyvfejezetek

1. Zelena D, Jain SK Oxytocin and Vasopressin in Stress and Stress-Related Diseases: Yin/Yang Counterparts or Substitutes? Nova Publisher, In: Handbook of Oxytocin Research Editor: Hugo Jastrow and Daniela Feuerbach (2009) 1:1-34.
2. Zelena D, Makara GB The role of adrenocorticotropin beyond the glucocorticoid horizon. Nova Publisher, In *Advances in Medicine and Biology* (2012) 43 (III) 109-138.
3. Zelena D, Morozova OYu, Filaretova LP Age-dependent role of vasopressin in susceptibility of gastric mucosa to indomethacin-induced injury. In *Cell/Tissue Injury and Cytoprotection/ Organoprotection in the Gastrointestinal Tract - Mechanisms, Prevention & Treatment*, Frontiers of Gastrointestinal Research, Editor: C. Sakamoto Karger (2012) 30: 219-229.
4. Fodor A, Zelena D The behavior of the mother and vasopressin. Nova Publisher, in *Hormones and Behavior* (2013) 2:29-66.
5. Varga J, Zelena D An unfairly undervalued participant of the stress processes: the vasopressin. in *Vasopressin: Mechanisms of Action, Physiology and Side Effects*. Nova Publisher (2013) 1:1-28.

10.2. Egyéb saját publikációk

10.2.1. Újságcikkek

1992

1. Tóth B, Zelena D, Szűcs K, Szöör B, Gergely P Comparative characterisation of liver glycogen metabolism in rat and guinea-pig. *Comp Biochem Physiol* (1992) 103B:547-552.

1997

2. Rabadan-Diehl C, Makara G, Kiss A, Lolait SJ, Zelena D, Ochedalski T, Aguilera G Regulation of pituitary V1b vasopressin receptor messenger ribonucleic acid by adrenalectomy and glucocorticoid administration. *Endocrinology* (1997) 138: 5189-5194.
3. Rabadan-Diehl C, Makara G, Kiss A, Zelena D, Aguilera G Regulation of pituitary corticotropin releasing hormone (CRH) receptor mRNA and CRH binding during

adrenalectomy: Role of glucocorticoids and hypothalamic factors. *J Neuroendocrinol* (1997) 9: 689-697.

1998

4. DeMaria JE, Zelena D, Vecsernyés M, Nagy GM, Freeman ME The effect of neurointermediate lobe denervation on hypothalamic neuroendocrine dopaminergic neurons. (1998) *Brain Res* 806: 89-94.
5. Haller J, Ábrahám I, Zelena D, Juhász G, Makara GB, Kruk MR Aggressive experience affects the sensitivity of neurons towards pharmacological treatment in the hypothalamic attack area. *Behav Pharmacol* (1998) 9: 469-475.
6. Zelena D, Jezova D, Ács Zs, Makara GB Monosodium glutamate lesions inhibit the N-methyl-D-aspartate-induced growth hormone but not prolactin release in rats. *Life Sci* (1998) 62: 2065-2072.

1999

7. Zelena D, Kiem DT, Barna I, Makara GB α 2-Adrenoceptor subtypes regulate ACTH and β -endorphin secretions during stress in the rat. *Psychoneuroendocrinology* (1999) 24: 333-343.
8. Zelena D, Haller J, Halász J, Makara GB Social stress of variable intensity: Physiological and behavioural consequences. *Brain Res Bull* (1999) 48: 297-302.
9. Zelena D, Makara GB, Jezova D Simultaneous blockade of two glutamate receptor subtypes (NMDA and AMPA) results in stressor-specific inhibition of prolactin and corticotropin release. *Neuroendocrinology* (1999) 69: 316-323. 2001
10. Makara GB, Harbuz MS, Coventry TL, Jessop DS, Zelena D, Lightman SL The effect of hypothalamic lesions on hypothalamo-pituitary adrenal axis activity and inflammation in adjuvant-induced arthritis. *Stress* (2001) 4: 25-37.

2003

11. Zelena D, Mergl Zs, Földes A, Kovács KJ, Tóth Zs, Makara GB Role of hypothalamic inputs in maintaining pituitary-adrenal responsiveness in repeated restraint. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2003) 285: E1110-E1117.
12. Zelena D, Makara GB, Nagy GM Effect of glutamate receptor antagonist on suckling-induced prolactin release in rats. *Endocrine* (2003) 21: 147-152.

2004

13. Barna I, Zelena D, Arszovszki A, Ledent C The role of endogenous cannabinoids in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis regulation: in vivo and in vitro studies in CB1 receptor knockout mice. *Life Sci* (2004) 75: 2959-2970.
14. Jezova D, Mlynarik M, Zelena D, Makara GB Behavioral sensitization to intermittent morphine in mice is accompanied by reduced adrenocorticotropine but not corticosterone responses. *Brain Res* (2004) 1021(1): 63-68.

2005

15. Zelena D, Barna I, Mlynarik M, Gupta OP, Jezova D, Makara GB Stress Symptoms Induced by Repeated Morphine Withdrawal in Comparison to Other Chronic Stress Models in Mice. *Neuroendocrinology* (2005) 81(3):205-215.

2007

16. Zelena D, Domokos A, Barna I, Csabai K, Bagdy G, Makara GB The role of vasopressin in chronic stress studied in a chronic mild stress model of depression. *Ideggyogy Sz* (2007) 60:196-200

2008

17. Toth ZE, Zelena D, Mergl Z, Kirilly E, Varnai P, Mezey E, Makara GB, Palkovits M Chronic repeated restraint stress increases prolactin-releasing peptide/tyrosine-hydroxylase ratio with gender-related differences in the rat brain. *J Neurochem.* (2008) 104(3):653-66.

2009

18. Zelena D, Mergl Z, Makara GB. Postnatal development in vasopressin deficient Brattleboro rats with special attention to the hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: the role of maternal genotype. *Int J Dev Neurosci* (2009) 27(2):175-83.
19. Kálmán S, Pákási M, Szucs S, Garab D, Domokos A, Zvara A, Puskás L, Bagdy G, Zelena D, Kálmán J [The transcription of the amyloid precursor protein and tryptophan 2,3-dioxygenase genes are increased by aging in the rat brain]. *Ideggyogy Sz* (2009) 62:326-32.
20. Halasz J, Zelena D, Toth M, Tulogdi A, Mikics E, Haller J Substance P neurotransmission and violent aggression: The role of tachykinin NK(1) receptors in the hypothalamic attack area. *Eur J Pharmacol* (2009) 611(1-3):35-43.
21. Bodnár I, Bánky Z, Zelena D, Halász B Glutamate Receptor Antagonist Infused into the Hypothalamic Suprachiasmatic Nuclei Interferes with the Diurnal Fluctuations in Plasma Prolactin and Corticosterone Levels and Injected into the Mesencephalic Dorsal Raphe Nucleus Attenuates the Suckling Stimulus-Induced Release of Prolactin of the Rat. *Brain Res Bull* (2009) 80(1-2):9-16.

2010

22. Adori C, Zelena D, Tímár J, Gyarmati Z, Domokos A, Sobor M, Fürst Z, Makara G, Bagdy G Intermittent prenatal MDMA exposure alters physiological but not mood related parameters in adult rat offspring. *Behav Brain Res* (2010) 206(2):299-309.
23. Szemerszky R, Zelena D, Barna I, Bárdos G Stress-related endocrinological and psychopathological effects of short- and long-term 50 Hz electromagnetic field exposure in rats *Brain Res Bull* (2010) 81(1):92-9.
24. Barsy B, Leveleki C, Zelena D, Haller J The context specificity of anxiety responses induced by chronic psychosocial stress in rats: A shift from anxiety to social phobia? *Stress* (2010) 13(3):230-7.
25. Könczöl K, Bodnár I, Zelena D, Pintér O, Papp RS, Palkovits M, Nagy GM, Tóth ZE Nesfatin-1/NUCB2 may participate in the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in rats *Neurochem Int* (2010) 57(3):189-97.

2011

26. Varga J, Domokos A, Barna I, Jankord R, Bagdy G, Zelena D Lack of vasopressin does not prevent the behavioural and endocrine changes induced by chronic unpredictable stress. *Brain Res Bull* (2011) 84:45-52.

27. Klausz B, Pintér O, Sobor M, Gyarmati Z, Fürst Z, Tímár J, Zelena D Changes in adaptability following perinatal morphine exposure in juvenile and adult rats. *Eur J Pharmacol* (2011) 654:166-72.
28. Pintér O, Péczely P, Zsebők S, Zelena D Seasonal changes in courtship behavior, plasma androgen levels and in hypothalamic aromatase immunoreactivity in male free-living European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Gen Comp Endocrinol* (2011) 15;172(1):151-7
29. Jain SK, Zelena D Gender specific influence of endogenous glutamate release on stress-induced fear in rats. *Endocr Regul* (2011) 45(1):13-21.

2012

30. Könczöl K, Pintér O, Ferenczi S, Varga J, Kovács K, Palkovits M, Zelena D, Tóth ZE Nesfatin-1 exerts long-term effect on food intake and body temperature. *Int J Obes (Lond)*. (2012) 36: 1514 – 1521.
31. Barna I, Zelena D The biochemical complexity of the endocannabinoid system with some remarks on stress and related disorders: a minireview. *Endocr Regul*. (2012) 46(2):107-24.
32. Derks NM, Pintér O, Zuure W, Ledent C, Watanabe M, Molnár CS, Wei Y, Roubos EW, Wu S, Hrabovszky E, Kozicz T, Zelena D Cannabinoid modulation of midbrain urocortin 1 neurones during acute and chronic stress. *J Neuroendocrinol* (2012) 24(11):1447-61.

2013

33. Bazhan N, Zelena D Food-intake regulation during stress by the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Brain Res Bull* (2013) 95:46-53.
34. Csölle C, Andó RD, Kittel A, Göllöncsér F, Baranyi M, Soproni K, Zelena D, Haller J, Németh T, Mócsai A, Sperlág B The absence of P2X7 receptors (P2rx7) on non-haematopoietic cells leads to selective alteration in mood-related behaviour with dysregulated gene expression and stress reactivity in mice. *Int J Neuropsychopharmacol* (2013) 16:213-233
35. Jain SK, Zelena D Role of ionotropic glutamate receptors in the control of prolactin secretion by other neurotransmitters and neuropeptides at the level of the pituitary. *Endocr Regul* (2013) 47(2):65-74.
36. Aliczki M, Zelena D, Mikics E, Varga ZK, Pinter O, Bakos NV, Varga J, Haller J Monoacylglycerol lipase inhibition-induced changes in plasma corticosterone levels, anxiety and locomotor activity in male CD1 mice. *Horm Behav* (2013) 63(5):752-8.
37. Filaretova L, Morozova O, Laszlo F, Morschl E, Zelena D Does chronic stress enhance the risk of diseases? *Endocr Regul* (2013) 47(4):177-88.

2014

38. Varga J, Klausz B, Domokos A, Kálmán S, Pákási M, Szűcs S, Garab D, Zvara A, Puskás L, Kálmán J, Tímár J, Bagdy G, Zelena D Increase in Alzheimer's related markers precedes memory disturbances: Studies in vasopressin-deficient Brattleboro rat. *Brain Res Bull* (2014) 100:6-13.
39. Fuentes S, Daviu N, Gagliano H, Garrido P, Zelena D, Monasterio N, Armario A, Nadal R Sex-dependent effects of an early life treatment in rats that increases maternal care: vulnerability or resilience? *Front Behav Neurosci* (2014) 8:56.
40. Fodor A, Timar J, Zelena D Behavioral effects of perinatal opioid exposure *Life Sci* (2014) 104(1-2):1-8.

41. Van der Doelen R, Deschamps W, D'Annibale C, Peeters D, Wevers R, Zelena D, Homberg J, Kozicz T Early life adversity and serotonin transporter gene variation interact at the level of the adrenal gland to affect the adult hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Translational Psychiatry* (2014) 4:e409.
42. Filaretova LP, Bagaeva TR, Morozova OY, Zelena D A wider view on gastric erosion: detailed evaluation of complex somatic and behavioral changes in rats treated with indomethacin at gastric ulcerogenic dose. *Endocr Regul* (2014) 48(4):163-72.

2015

43. Zelena D, Stocker B, Barna I, Tóth ZE, Makara GB Vasopressin deficiency diminishes acute and long-term consequences of maternal deprivation in male rat pups, *Psychoneuroendocrinology* (2015) 51:378-91.
44. Varga J, Fodor A, Klausz B, Zelena D. Anxiogenic role of vasopressin during the early postnatal period: maternal separation-induced ultrasound vocalization in vasopressin-deficient Brattleboro rats. *Amino Acids* (2015)

10.2.2. Könyvfejezetek

1. Zelena D, Domokos A, Mergl Zs The Role of Vasopressin in Chronic Stress-induced Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis Hyperactivity: Studies on Brattleboro Rats with repeated restraint. Nova Publishers, In *Neuropeptide research trends* (2007) Chapter VII. pp. 189-212.
2. Zelena D, Mergl Zs, Makara GB Comparison of the Effect of High and Low Vasopressin Levels in Portal Circulation: Studies in Posterior Pituitary Denervated and Brattleboro Rats in *New Research on Neurosecretory Systems*, Nova Publishers, In *New Research on Neurosecretory Systems* (2008) XII: 201-223.
3. Zelena D Co-regulation and epigenetic dysregulation in schizophrenia and bipolar disorder, inJ. Minarovits and H.H. Niller (eds.), *Patho-Epigenetics of Disease*, Springer Science+Business Media New York (2012) 281-348.
4. Klausz B, Haller J, Tulogdi Á, Zelena D Genetic and epigenetic determinants of aggression, inJ. Minarovits and H.H. Niller (eds.), *Patho-Epigenetics of Disease*, Springer Science+Business Media New York (2012) 227-280.
5. Haller J, Zelena D The role of the Hypothalamus in psychiatric illnesses, In *The Human Hypothalamus: Anatomy, Functions and Disorders*, Nova Publisher (2013) 13:371-418,

11. Köszönetnyilvánítás

Őszinte hálával tartozom örök mentoromnak, Makara Gábornak, aki munkám kezdetén megismertetett a természettudományos kutatás iránti mély és alázatos tisztelettel és tanácsaival sokszor átlendített (és még lendít ma is) a nehézségeken.

Nagyon köszönöm Haller Józsefnek, hogy bevezetett a magatartáskutatás alapjaiba és mindig támogatta egyéni elképzeléseim megvalósítását.

Szeretném megköszönni a több mint 20 év munka alatt a KOKI-ban, elsősorban a Magatartásélettan és Stressz kutatócsoportban, de egyéb intézményekben is együttműködő munkatársaim szeretetét, támogatását, kitartó munkáját. A teljesség igénye nélkül köszönöm Mergl Zsuzsa, Till Ibolya, Ács Zsuzsa, Barna István, Do Thank Kim és Bekóné Hajni közreműködését a pályám kezdeti szakaszában. Későbbi KOKI-ban dolgozó kollégáim közül ki kell emelnem Fekete Ágnes, Klausz Barbara és Bakosné Niki asszisztenseim áldozatos munkáját, valamint Domonkos Ágnes, Pintér Ottó, Varga János, Fodor Anna és Balázsfi Dia közvetlen munkatársaimat a cikkek anyagának összegyűjtésében, és az eredmények interpretálásában nyújtott segítségért.

Sokat köszönhetek a csoport minden tagjának, hiszen egy olyan közegben dolgozhattam velük, ami szakmailag inspiráló, emberileg támogató volt.

Köszönöm Kovács Krisztának, Ferenczy Szilamérnek (MTA KOKI Molekuláris Neuroendokrinológia Kutatócsoport) és Várnainé Tóth Zsuzsának (SOTE Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet) az évek során folytatott inspiráló beszélgetéseket és a közös munkát.

Külföldi kollégáim közül nem lehetek elég hálás Ludmilla Filaretovának (Pavlov Intézet, Szent Pétervár, Oroszország) és Daniela Jezovának (Slovak Academy of Sciences Institute of Experimental Endocrinology Bratislava, Slovakia), akik mindig támogatólag léptek fel irányomban. Mario Engelmann (Otto von Guericke Institute, Magdeburg, Németország) közösen kivitelezett kutatási projekttel is segítette munkámat. Roser Nadal-lal (Barcelona, Spanyolország) való együttműködésem eredménye az anyai magatartás vizsgálatának megvalósulása, valamint az impulzivitás tesztrel való közelebbi megismerkedésem is. Subodh Jain (Sagar, India) látóköröm szélesítéséhez járult hozzá.

Köszönet illeti a családomat is, akik mindig támogatták elképzeléseim megvalósulását.